

Entwicklung einer Technologie zur langzeitstabilen Biologischen Reinigung schwermetallbelasteter Bergbauwässer



Dissertation
zur
Erlangung des Grades eines
Doktoringenieur
- Dr.- Ing. -

der Fakultät Maschinenwesen
der Technischen Universität Dresden
vorgelegt von

Christian Deusner

geb. am 15.11.1974 in Hilden

2003

1. Gutachter: Prof. Dr. T. Bley
2. Gutachter: Prof. Dr. W. Babel
3. Gutachter: Prof. Dr. B. Mahro

Tag des Promotionskolloquiums: 27. Mai 2004

Danksagung

Ich möchte Herrn Professor Dr. W. Babel (UFZ) danken für die Möglichkeit, diese Arbeit in der Sektion Umweltmikrobiologie anfertigen zu können und für seine Bereitschaft, meine Arbeit zu betreuen. Professor Dr. Babel hat durch seine fortwährende und wertvolle Unterstützung und sein Interesse in allen Phasen meiner Arbeit entscheidend zum jeweils nächsten Schritt beigetragen.

Ich danke ebenso Herrn Professor Dr. T. Bley (TU Dresden) für seine Bereitschaft, diese Arbeit zu betreuen und seine Unterstützung und Anregungen in vielen wissenschaftlichen Diskussionen.

Herrn Dr. C. Löser (TU Dresden) möchte ich ebenfalls für seine Bereitschaft zur wissenschaftlichen Diskussion und wertvolle Anregungen danken.

An dieser Stelle möchte ich auch Professor Dr. B. Mahro (Hochschule Bremen) danken, der mein Interesse für den Themenbereich geweckt hat.

Mein Dank gilt zahlreichen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des UFZ. Ich danke besonders Herrn D. Geinitz, der im Rahmen seiner Diplomarbeit wichtige experimentelle Arbeiten durchgeführt hat. Frau K. M. Schleinitz verdanke ich sehr viele Impulse und Anstöße in allen Arbeitsphasen. Den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Geomikrobiologie, mit denen ich viel Zeit verbringen durfte, möchte ich für diese Zeit danken. Herr Dr. A. Wiesner, Herr M. Jechorek und Frau K. Bernhard haben mich bei der Durchführung experimenteller Arbeiten sehr unterstützt. Bei Herrn Dr. T. R. Neu und Frau U. Kuhlike möchte ich mich bedanken für die Laserscanningmikroskop-Aufnahmen. Ich danke Herrn Dr. R. Wennrich und Frau I. Volkmann für die Durchführung der Metallanalytik. Ganz besonderer Dank gebührt Frau B. Würz, Frau R. Remer, Herrn Dr. V. Riis und Frau G. Weichert für die Unterstützung bei den zahlreichen Analysen. Herrn Dr. C. Vogt und Herrn Dr. A. Alfreider möchte ich ebenfalls für die Unterstützung bei praktischen Arbeiten und theoretischen Fragen danken. An dieser Stelle möchte ich auch Frau M. Kolbe für die Versorgung mit teilweise erheblichen Mengen Nährmedien danken. Abschließend möchte ich allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Sektion Umweltmikrobiologie danken für die vielfältige Unterstützung in der gesamten Zeit.

Herrn Dr. D. Vogel und Herrn Dr. G. Kießig von der Wismut GmbH danke ich für ihre Diskussionsbereitschaft.

Ich möchte ganz besonders meinen Eltern danken, die mich immer unterstützt haben und meinem Bruder Michael, der bei der Gestaltung der Arbeit maßgeblich mitgewirkt hat.

Viele liebe Menschen waren sehr wichtig für mich in der Zeit dieser Arbeit und haben viel zum Entstehen dieser Arbeit beigetragen, auch wenn oftmals nicht einfach in Worte zu fassen ist, was das genau war. Stellvertretend dafür danke ich daher für Kuchen, Kekse und viele andere motivierende Maßnahmen.

*“Am Anfang jeder Forschung steht das Staunen.
Plötzlich fällt einem etwas auf.”*

Wolfgang Wickler (*1931), dt. Verhaltensforscher u. Zoologe

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | EINLEITUNG | 1 |
| 1.1 | Problemstellung | 1 |
| 1.2 | Schwermetalleliminierung - Stand der Technik | 4 |
| 1.2.1 | Mechanismen der Schwermetalleliminierung | 4 |
| 1.2.2 | <i>Aktive Verfahren</i> | 7 |
| 1.2.3 | <i>Passive Verfahren</i> | 7 |
| 1.3 | Mikrobielle Sulfatreduktion | 10 |
| 1.3.1 | Mechanismus | 10 |
| 1.3.2 | Technische Umsetzung im <i>Aktiven Verfahren</i> | 11 |
| 1.3.3 | Technische Umsetzung im <i>Passiven Verfahren</i> | 12 |
| 1.4 | Zielstellung und Vorgehensweise | 16 |
| 2 | MATERIAL UND METHODEN | 18 |
| 2.1 | Mikroorganismen und Stammhaltung | 18 |
| 2.2 | Kulturmedien und Lösungen | 18 |
| 2.3 | Vorkultivierung | 24 |
| 2.4 | Auswahl und Erprobung der <i>Festen Substanzgemische</i> (FSG) | 26 |
| 2.4.1 | Eluierbarkeit organischer Verbindungen | 26 |
| 2.4.2 | Verhalten gegenüber Schwermetallionen | 26 |
| 2.4.3 | Sulfatreduktion mit den Eluaten der <i>Festen Substanzgemische</i> (FSG) | 27 |
| 2.4.4 | Sulfatreduktion in Anwesenheit der <i>Festen Substanzgemische</i> (FSG) | 27 |
| 2.5 | Behandlung der Wässer im einstufigen Reaktorsystem | 27 |
| 2.6 | Behandlung der Wässer im zweistufigen Reaktorsystem | 29 |
| 2.7 | Batch-Versuche zum Substratumsatz - Identifizierung der relevanten Elektronendonoren | 32 |
| 2.8 | Einfluss von Schwermetallsulfiden auf die technisch relevanten anaeroben Prozesse | 33 |
| 2.8.1 | <i>Batch</i> -Kultivierung mit organischen Säuren | 33 |
| 2.8.2 | Sorptionsversuche mit H ₂ | 36 |
| 2.8.3 | <i>Fed-Batch</i> -Kultivierung mit H ₂ / Lactat / Methanol | 37 |
| 2.8.4 | <i>Batch</i> -Kultivierung von <i>Syntrophomonas wolfei</i> , ssp. <i>wolfei</i> | 39 |
| 2.8.5 | Kontinuierlicher Prozess mit <i>Synthetischem Eluat</i> (SE) | 40 |
| 2.8.6 | Kontinuierlicher Prozess in Festbettreaktoren | 41 |
| 2.9 | Analytik | 42 |
| 2.9.1 | Wässrige Phase | 42 |
| 2.9.2 | Kohlenstoff in der Festphase | 44 |

| | | |
|-------------|---|-----------|
| 2.9.3 | Wasserstoff in der Gasphase | 44 |
| 2.9.4 | Mikroskopie | 44 |
| 2.9.4.1 | Lichtmikroskopie | 44 |
| 2.9.4.2 | <i>Confocal Laser Scanning Mikroskopie</i> | 45 |
| 2.10 | Modellierung und Simulation | 45 |
| 2.11 | Material und Zubehör | 46 |
| 3 | ERGEBNISSE | 47 |
| 3.1 | Verfahrenskonzept | 47 |
| 3.1.1 | Anforderungen an das Verfahren | 47 |
| 3.1.2 | Elutionstufe (R_1) | 48 |
| 3.1.3 | Anaerobstufe (R_2) - Sulfatreduktion und Schwermetalleliminierung | 49 |
| 3.1.4 | Sulfideliminierung (R_3) und Nachklärung (R_4) | 49 |
| 3.1.5 | Potenzial zur Selbststabilisierung des Prozesses | 49 |
| 3.2 | Auswahl und Erprobung der <i>Festen Substanzgemische</i> (FSG) | 51 |
| 3.2.1 | Auswahlkriterien und Vorauswahl | 51 |
| 3.2.2 | Elutionsverhalten der <i>Festen Substanzgemische</i> (FSG) | 52 |
| 3.2.3 | Sulfatreduktion mit Eluaten der <i>Festen Substanzgemische</i> (FSG) | 54 |
| 3.2.4 | Sulfatreduktion in Anwesenheit der <i>Festen Substanzgemische</i> (FSG) | 55 |
| 3.2.5 | Verhalten der <i>Festen Substanzgemische</i> (FSG) in Anwesenheit von Schwermetallionen | 58 |
| 3.3 | Behandlung der Wässer im einstufigen Reaktorsystem | 62 |
| 3.4 | Behandlung der Wässer im zweistufigen Reaktorsystem | 64 |
| 3.4.1 | Vorgehensweise | 64 |
| 3.4.2 | Optimierung von R_2 | 65 |
| 3.4.3 | Optimierung von R_1 | 65 |
| 3.4.3.1 | Änderung der Elutionsart | 65 |
| 3.4.3.2 | Einfluss des pH-Wertes in R_1 | 69 |
| 3.4.3.3 | Einfluss der Begasung in R_1 | 71 |
| 3.4.4 | Batch-Versuche zum Substratumsatz - Identifizierung der relevanten Elektronendonoren | 75 |
| 3.4.5 | Technische Kopplung von R_1 und R_2 im kontinuierlichen Prozess | 79 |
| 3.4.5.1 | Vorgehensweise | 79 |
| 3.4.5.2 | Kontinuierlicher Prozess mit Austausch des <i>Festen Substanzgemisches</i> (FSG) bei Verkürzung der Verweilzeit | 80 |
| 3.4.5.3 | Stabilisierung des Prozesses bei aufgezehrtem <i>Festen Substanzgemisch</i> (FSG) | 87 |
| 3.4.5.4 | Beeinflussung des Prozesses durch Schwermetalle | 89 |
| 3.5 | Einfluss von Schwermetallsulfiden auf die technisch relevanten anaeroben Prozesse | 92 |
| 3.5.1 | Bedeutung für den technischen Prozess | 92 |
| 3.5.2 | Kultivierung mit organischen Säuren | 93 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 3.5.3 | Exkurs | 96 |
| 3.5.3.1 | These und Modellbildung | 96 |
| 3.5.3.2 | Modellstrukturierung | 97 |
| 3.5.3.3 | Modellierung und Simulation | 98 |
| 3.5.4 | Sorptionsversuche mit H ₂ | 106 |
| 3.5.5 | Kultivierung mit <i>Synthetischem Eluat</i> (SE) in <i>Segmentierten Reaktoren</i> | 108 |
| 3.5.6 | <i>Fed-Batch</i> -Kultivierung mit H ₂ / Lactat / Methanol | 110 |
| 3.5.7 | Kultivierung von <i>Syntrophomonas wolfei</i> spp. <i>wolfei</i> | 113 |
| 3.5.8 | Kontinuierlicher Prozess mit <i>Synthetischem Eluat</i> (SE) | 116 |
| 3.5.9 | Kontinuierlicher Prozess in Festbettreaktoren | 118 |
| 4 | DISKUSSION | 120 |
| 4.1 | Mikrobiologisch vermittelte Stoffumsätze als Basis des technischen Prozesses | 120 |
| 4.2 | Schwermetalleliminierung | 124 |
| 4.3 | Möglichkeiten und Grenzen zur technischen Umsetzung | 126 |
| 4.3.1 | Elutionsstufe (R ₁) | 126 |
| 4.3.2 | Sulfatreduktionsstufe (R ₂) | 127 |
| 4.4 | Kopplung der Prozesse - Syntrophe und <i>Interspecies Hydrogen Transfer</i> | 128 |
| 4.5 | Einfluss von Schwermetallsulfiden auf anaerobe Prozesse | 129 |
| 4.6 | Modellierung und Simulation des Prozesses | 134 |
| 4.6.1 | Ziele der Modellbildung | 134 |
| 4.6.2 | Modellbildung und Modellstruktur | 135 |
| 4.6.3 | Simulation | 146 |
| 4.7 | Konzeptionierung der verfahrenstechnischen Umsetzung | 152 |
| 4.7.1 | Verfahrenstechnik und Betriebsweise | 152 |
| 4.7.2 | Zusätzliche technische Stufen | 153 |
| 4.7.2.1 | Neutralisationsfilter | 153 |
| 4.7.2.2 | Sulfidfilter | 153 |
| 4.7.2.3 | Nachklärung | 154 |
| 4.7.3 | Messtechnik / Regelungstechnik / Regelungsstrategie | 154 |
| 4.8 | Stellenwert der Technologie im Vergleich zu bisherigen technischen Entwicklungen zur Behandlung von Bergbauwässern mittels mikrobieller Sulfatreduktion | 156 |
| 4.9 | Ausblick | 158 |
| 5 | ZUSAMMENFASSUNG | 159 |
| 6 | LITERATURVERZEICHNIS | 163 |

Allgemeine Abkürzungen¹

| Abkürzung | Bedeutung | Abkürzung | Bedeutung |
|--------------------------------------|---|-----------------|--|
| Ab | Ablauf | R ₃ | Reaktorstufe 3: Sulfidelimination |
| Abb. | Abbildung | R ₄ | Reaktorstufe 4: Nachklärung |
| AMD | Acid Mine Drainage | RT | Raumtemperatur |
| c | Konzentration | SE | Synthetisches Eluat |
| C | Kohlenstoff | SRB | Sulfatreduzierende(s) Bakterien / Bakterium |
| CLSM | Confocal Laser Scanning Microscopy | SRM | Sulfatreduzierer-Medium |
| [CuFe]-S | Kupfer-Eisen-Sulfid (Mischsulfid unbekannter Stöchiometrie) | SRM-Fe | Sulfatreduzierer-Medium mit verminderter Eisengehalt |
| DOC | Gelöster Organischer Kohlenstoff | SM | Schwermetall |
| E | Redoxpotential | SM I | Schwermetalllösung I |
| [FeNi]-S | Eisen-Nickel-Sulfid (Mischsulfid unbekannter Stöchiometrie) | SM II | Schwermetalllösung II |
| [FeNi]-S ₊ H ₂ | Eisen-Nickel-Sulfid (Mischsulfid unbekannter Stöchiometrie) unter H ₂ gelagert, erhöhter Fe-Anteil | SM III | Schwermetalllösung III |
| FeS ₊ H ₂ | Eisensulfid unter H ₂ gelagert | SR | Sulfatreduktion |
| FR | Fällungsreihe | TC | Gesamt-Kohlenstoff |
| FSG | Festes Substanzgemisch | TOC | Gesamter Organischer Kohlenstoff |
| GH | Gesamthärte | TS | Trockensubstanz |
| HRT | Hydraulische Verweilzeit | Um | Umlauf |
| IC | Anorganischer Kohlenstoff | VFA | Volatile Fatty Acid(s) |
| K _{SP} | Löslichkeitsprodukt | VFA-C | in VFA gebundener Kohlenstoff |
| MeS | Metallsulfid | V _g | Volumen Gasphase |
| Me ⁺ | Metallion | V _l | Volume Flüssigphase |
| MK I | Sulfatreduzierende Mischkultur | v/v | Volumenanteil |
| MK II | Biogas-Kultur | WHG | Wasserhaushalts-Gesetz |
| MK III | Belebtschlamm-Kultur | w/w | Gewichtsanteil |
| MPB | Methanogene Mikroorganismen | \bar{x} | Mittelwert |
| [NiFe]-S | Nickel-Eisen-Sulfid (Mischsulfid unbekannter Stöchiometrie), erhöhter Ni-Anteil | Zu | Zulauf |
| [NiFe]-S ₊ H ₂ | Nickel-Eisen-Sulfid (Mischsulfid unbekannter Stöchiometrie) unter H ₂ gelagert, erhöhter Ni-Anteil | ΔG' | Freie Reaktionsenthalpie |
| NMD | Neutral Mine Drainage | ΔG ^o | Freie Standardreaktionsenthalpie |
| R ₁ | Reaktorstufe 1: Elution | ρ | Korrelationskoeffizient |
| R ₂ | Reaktorstufe 2: Sulfatreduktion / Schwermetalleliminierung | σ | Standardabweichung |

¹ Im Rahmen der Modellbildung werden an entsprechender Stelle (Tabelle 3.13 in Abschnitt 3.5.3 und Tabelle 4.2 in Abschnitt 4.6) weitere, spezielle Abkürzungen eingeführt.

1 Einleitung

1.1 Problemstellung

Die Behandlung von Bergbauabwässern ist gegenwärtig und zukünftig weltweit ein umwelttechnisch, betriebswirtschaftlich und volkswirtschaftlich relevantes Problem.¹

In erster Linie gilt eine Behandlung von Bergbauabwässern den Reinigungszielen Schwermetalleliminierung und Neutralisation. Dabei stellt der geläufige begriffliche Terminus *Bergbauabwasser* kein einheitlich definiertes Abwasser dar. Die Abwässer unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Genese, ihrer Zusammensetzung und der anfallenden Volumina erheblich. Unterscheidungskriterien hinsichtlich der chemischen Merkmale solcher Wässer sind u.a. pH-Wert und Redoxpotenzial, Sulfatkonzentration und Art und Konzentration an gelösten Schwermetallen.

Diese Arbeit zielt sowohl auf die ergänzende Behandlung von sauren Bergbauabwässern (*Acid Mine Drainage*, AMD) als auch auf die Behandlung von neutralen bis alkalischen Wässern (*Neutral Mine Drainage*, NMD).

Acid Mine Drainage (AMD)

Der Begriff des *Acid Mine Drainage* charakterisiert Wässer mit niedrigem pH-Wert, in der Regel hohen Schwermetallgehalten und hohen Sulfatkonzentrationen, die sowohl hydrogeochemisch als auch mikrobiologisch bedingt sind [z.B. Ledin und Pedersen 1996, Geller et al. 1998]. Die chemische Zusammensetzung der verschiedenen Wässer variiert stark, so dass hier immer der spezielle Standort betrachtet werden muss. Einige Beispiele für AMD sind in Tabelle 1.1 genannt.

Neutral Mine Drainage (NMD)

Von den sauren Bergbauabwässern unterscheiden sich NMD durch ihren nahe neutralen bis leicht alkalischen pH-Wert. Infolgedessen sind die Schwermetallkonzentrationen i.d.R. deutlich niedriger im Vergleich zu AMD, liegen jedoch für bestimmte Elemente immer noch um einige Größenordnungen über den zulässigen Einleitegrenzwerten. Trotzdem diese Abwässer bisher weniger Beachtung fanden als AMD, stellt ihre effektive und ökonomische Behandlung gerade aufgrund der geringeren Schwermetallbelastung ein verfahrenstechnisches Problem dar [Vogel et al. 1996, Kießig und Hermann 2000]. Tabelle 1.2 gibt einen Überblick über unterschiedliche Wässer dieses Typs.

¹ Die ökologischen Auswirkungen der Bergbauaktivität auch nach Stilllegung der Bergwerke geraten mehr und mehr ins Bewusstsein der Öffentlichkeit. Gewässerversauerung und Gewässerkontamination durch Schwermetalle sind in vielen Bergbauregionen der Welt in jener Beziehung ein Kernproblem. Durch Ablagerung von schwermetallhaltigem Abraummaterial oder infolge von Grundwasserabsenkung kommen vormals unter Sauerstoffabschluss gelagerte Mineralien in Kontakt zum Luftsauerstoff. Biotische und abiotische Verwitterungsprozesse werden eingeleitet oder verstärkt, die in der Folge zu Gewässerversauerung und Schwermetallmobilisierung führen und umliegende Ökosysteme, Grund- und Oberflächenwasser gefährden [z.B. Geller et al. 1998].

Tabelle 1.1: Beispiele Acid Mine Drainage (Konzentrationsangaben in mg/l)

| | Chon et al. [1999] | Chtaini et al. [2002] | Feng et al. [2000] | Jakubick et al. [2002] | Van Hille et al. [1999] | Schneider et al. [2002] | Deissmann et al. [1995] | Vogel et al. [1996] | Cravotta III und Trahan [1999] | Dinelli und Tateo [2002] | Christensen et al. [1996] |
|------------------------------------|-----------------------|--------------------------|-----------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|------------------------|--------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| pH | 3,49 | 2,57 | 1,65 | 2,10 | 1,88 | 2,90 | 2,51 | 2,87 | 3,50 | 2,70 | 2,40 |
| Al | 103,10 | | 249,00 | 198,00 | | | 29,12 | 534,00 | 0,89 | 99,00 | 263,00 |
| As | | | | 0,65 | | | 0,076 | | | | |
| Cd | 0,003 | 4,90 | 0,26 | 1,08 | | | 0,025 | 0,161 | | | |
| Co | 0,859 | | 1,94 | | | | 1,50 | | 0,093 | | |
| Cr | 0,006 | | 4,85 | | | | 0,024 | | | | |
| Cu | 0,147 | 30,60 | 1,80 | | 3,49 | | 0,67 | 21,50 | 0,01 | 46,00 | 99,20 |
| Fe | 1033,00 | 545,00 | 942,00 | | 98,95 | 473,00 | 220,60 | 977,00 | 2,70 | 225,00 | 1160,00 |
| Mg | 262,00 | 350,00 | 359,00 | 42,30 | | 80,00 | 2751,00 | 2082,00 | 26,00 | 484,00 | 212,00 |
| Mn | 20,60 | 145,60 | 113,00 | 20,70 | | 27,00 | 24,24 | 90,00 | 3,05 | | 11,70 |
| Ni | 5,753 | 0,70 | 5,75 | | | 3,60 | 7,37 | 22,00 | 0,12 | 2,00 | |
| U | | | | 35,00 | | 30,00 | 2,41 | 5,10 | | | |
| Zn | 0,898 | 373,40 | 10,10 | 109,00 | 7,16 | 160,00 | 6,75 | | 0,220 | 21,00 | 98,20 |
| SO₄²⁻ | 3315,80 | 1417,00 | 6305,00 | 7211,00 | 4415,51 | 4450,00 | | 13929,0 | 215,00 | 3500,00 | 6600,00 |

Tabelle 1.2: Beispiele Neutral Mine Drainage (Konzentrationsangaben in mg/l)

| | Feng [2000] | Deissmann [1995] | Heikkinen et al. [2002] | Iribar et al. [2000] | Nuttall und Younger [2000] | Tiwary [2000] | Younger [2000] | Banwart und Malmstrom [2001] | Dinelli und Tateo [2002] | Maree und du Plessis [1994] | Schreck und Gläßer [1997] |
|------------------------------------|----------------|---------------------|----------------------------|-------------------------|----------------------------------|------------------|-------------------|------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| pH | 6,90 | 6,80 | 7,20 | 8,00 | 7,52 | 7,13 | 7,00 | 5,01 | 5,20 | 8,00 | 6,20 |
| Al | 3,40 | 0,06 | | | | | | | | | |
| As | | | | | | | | | | | |
| Cd | 0,22 | | | | 0,007 | | | | | | 2,80 |
| Co | 1,05 | 0,61 | 330,00 | | | | | | | | |
| Cr | 0,01 | | | | | | | | | | |
| Cu | 0,03 | <0,01 | 0,03 | | | 0,34 | 0,04 | 2,71 | 5,90 | | 13,20 |
| Fe | 332,00 | 0,05 | 1,18 | 0,70 | | 3,74 | 0,60 | 3981,00 | 0,60 | | |
| Mg | 349,00 | 2742,00 | 1440,00 | 43,00 | | | 42,00 | 246,00 | 72,00 | | |
| Mn | 98,80 | 17,48 | 3,53 | 0,30 | | 0,24 | | | | 17,00 | |
| Ni | 2,37 | 2,95 | 360,00 | 0,015 | | 0,364 | | | 0,40 | 0,70 | |
| U | | 0,07 | | | | | | | | | |
| Zn | 0,54 | 0,32 | 94,70 | 0,90 | 7,80 | | 27,00 | 304,00 | 1,50 | 0,60 | 2626,00 |
| SO₄²⁻ | 3425,00 | | 7440,00 | 921,00 | 250,00 | | 695,00 | 9165,00 | 650,00 | 6000,00 | 6750,00 |

Emissions- und immissionsseitige Anforderungen

Die verfahrenstechnischen Anforderungen an die Reinigung von Bergbauwässern ergeben sich aus gesetzlich bzw. behördlich festgelegten Grenzwerten, die sich besonders auf Schwermetallkonzentration und -fracht beziehen.

Die Behandlung der Wässer im Sinne dieser Arbeit ist als solche keinem gesetzlichen Regelwerk eindeutig zuzuordnen, da schon die juristische Kategorisierung der Wässer nicht eindeutig ist. Für die Reinigung von Grubenwässern, die nicht als Abwässer sondern als kontaminierte Grundwässer eingestuft werden, existieren z.B. keine Mindestanforderungen nach Stand der Technik. Haldensickerwässer und Wässer aus Absetzanlagen werden hingegen als Abwässer eingestuft, wobei für Sickerwässer ebenfalls keine eindeutigen Grenzwerte nach WHG existieren. Die Behandlung orientiert sich in der Folge im Falle der *Wismut GmbH* an länderrechtlichen Anforderungen gemäß Stand der Technik an die Behandlung von Deponiesickerwasser, womit die Bergbau-Sickerwässer lediglich mit *Abwasser* vergleichbar angesehen werden [*Wismut GmbH*, persönliche Mitteilung].

Die Festlegung der Grenzwerte für einzelne Schwermetalle, Metalloide und Radionuklide richtet sich nach deren spezifischer Öko- und Humantoxizität, auch unter Berücksichtigung von Faktoren wie Bioverfügbarkeit [Roostai et al. 2002]. Unter Toxizität ist vorrangig chemische Toxizität zu verstehen, jedoch werden in Fällen von Radionukliden (Uran, Radium) auch Grenzwerte aus der Strahlenschutzverordnung, d. h. aufgrund radioaktiver Toxizität, abgeleitet. Festzuhalten ist, dass die rechtliche Situation unpräzise ist und die Gesetzgebung die Behandlung von Bergbauwässer betreffend auch im Rahmen der Einführung europäischen Rechts (Europäische Wasser-Rahmen-Richtlinie) Veränderungen unterworfen sein wird.

Die in Tabelle 1.3 genannten Werte zu emissionsseitigen Anforderungen an gereinigte Wässer der *Wismut GmbH* sind daher in diesem Sinne als Richtwerte für die Verfahrensentwicklung zu verstehen, die sich aus behördlichen Festlegungen unter Berücksichtigung des speziellen Standortes mit seinen immissionsseitigen Charakteristika ergeben [*Wismut GmbH*, persönliche Mitteilung].

Tabelle 1.3:

Überwachungswerte der Wasserbehandlungsanlage Ronneburg zur Abgabe des Wassers in den Wipsegraben [*Wismut GmbH*, persönliche Mitteilung]

| Parameter | Einheit | Überwachungswert | Parameter | Einheit | Überwachungswert |
|--------------|-----------------------------------|------------------|-----------------------|-----------------------------------|------------------|
| pH-Wert | / | 6,5 bis 8,5 | Arsen | $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ | 20 |
| Magnesium | $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ | 500 | Blei | $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ | 50 |
| Kalzium | $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ | 500 | Zink | $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ | 200 |
| Aluminium | $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ | 2 | Nickel | $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ | 50 |
| Eisen | $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ | 2 | Molybdän | $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ | 100 |
| Mangan | $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ | 1 | Kupfer | $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ | 50 |
| Chlorid | $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ | 200 | Chrom | $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ | 100 |
| Sulfat | $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ | 3000 | Cadmium | $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ | 3 |
| GH | °dH | 200 | Kobalt | $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ | 100 |
| Uran | $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ | 500 | Quecksilber | $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ | 1 |
| Radium - 226 | $\text{mBq} \cdot \text{l}^{-1}$ | 400 | abfiltrierbare Stoffe | $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ | 20 |

1.2 Schwermetalleliminierung - Stand der Technik

1.2.1 Mechanismen zur Schwermetalleliminierung

Schwermetalle können in technischen Verfahren durch unterschiedliche physikalische, chemische und biologische Mechanismen aus Abwässern entfernt werden. In den meisten Fällen werden zur Behandlung von Bergbauabwässern Fällungsverfahren eingesetzt, wobei i.d.R. durch die Neutralisation der Wässer die Schwermetalle aus dem Abwasserstrom abgetrennt werden. Die Fällung der Schwermetalle wird herbeigeführt durch die Dosierung von beispielsweise Natronlauge, Kalk, Kalkmilch oder Flugasche [Deissmann et al. 1995, Baltpurvins et al. 1996, Feng et al. 2000, Chtaini et al. 2001, Catalan et al. 2002, Löser et al. 2002, Polat et al. 2002, Rio et al. 2002, Seidel et al. 2002]. In wesentlich geringerem Maße sind neben der hydroxidischen bzw. oxohydroxidischen Fällung von Schwermetallen Carbonat- und Sulfidfällung technisch relevant [Bosse 2000, Nuttall und Younger 2000].

Die technischen Grenzen von Fällungsverfahren sind abhängig von den zu fällenden Schwermetallionen, der Zusammensetzung der Salzlösungen, der Anwesenheit von anorganischen und organischen Komplexbildnern und weiteren spezifischen Größen [Baltpurvins et al. 1996, Lin et al. 1998]. Die Behandelbarkeit eines Abwassers mittels Fällung muss daher im Einzelfall experimentell untersucht werden. Eine vorläufige Beurteilung der Fällbarkeit kann jedoch anhand der Löslichkeitsprodukte erfolgen. Dargestellt sind in Tabelle 1.4 die Löslichkeitsprodukte der jeweiligen hydroxidischen Verbindungen im Vergleich zu denen der carbonatischen und sulfidischen Verbindungen.

Tabelle 1.4:

Löslichkeitsprodukte (K_{SP} , 25°C)

| | Ni | Cu | Zn | Fe | Cd | Mn | Pb |
|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|
| Hydroxid | $1,6 \cdot 10^{-16}$ | $1,6 \cdot 10^{-19}$ | $4,5 \cdot 10^{-17}$ | $1,8 \cdot 10^{-15}$ | $2,0 \cdot 10^{-14}$ | $2,0 \cdot 10^{-13}$ | $4,2 \cdot 10^{-15}$ |
| [Cheong et al. 1998] | | | | | | | |
| Carbonat | $1,42 \cdot 10^{-7}$ | | $1,19 \cdot 10^{-10}$ | $3,07 \cdot 10^{-11}$ | $6,18 \cdot 10^{-12}$ | | $1,46 \cdot 10^{-13}$ |
| [Lide 1996] | | | | | | | |
| Sulfid | $3,0 \cdot 10^{-21}$ | $4,0 \cdot 10^{-38}$ | $4,5 \cdot 10^{-24}$ | $1,0 \cdot 10^{-19}$ | $1,4 \cdot 10^{-23}$ | $5,6 \cdot 10^{-16}$ | $1,0 \cdot 10^{-29}$ |
| [Cheong et al. 1998] | | | | | | | |

Die technischen Ansätze, mittels hydroxidischer Fällung die Schwermetallkonzentrationen ausreichend zu senken und eine direkte Einleitung der gereinigten Abwässer zu ermöglichen, sind vielfach nicht ausreichend. Für die meisten Ionen, z.B. Nickel²⁺, ist eine carbonatische Fällung ebenfalls nicht vorteilhaft (siehe Tabelle 1.4).

Allein die sulfidische Fällung bietet sich i.d.R. aufgrund der sehr geringen Löslichkeitsprodukte an, wird aber als rein chemischer Prozess (z.B. Fällung mit Na_2S) im technischen Maßstab weniger eingesetzt. Grund hierfür ist u.a. die aufwendigere Prozessführung, da einerseits die Anlagen einer höheren Korrosionsgefahr ausgesetzt sind und andererseits eine Freisetzung von toxischem Schwefelwasserstoff technisch ausgeschlossen werden muss. Darüber hinaus ist die Durchführung der Fällung und die Abscheidung der Präzipitate (oftmals kolloidale, schwer absetzbare Verbindungen) technisch problematisch. Genügen Fällungsverfahren nicht den Ansprüchen zur Schwermetalleliminierung oder ist ihre Anwendung aus anderen Gründen technisch oder ökonomisch limitiert (z.B. hohes Schlammaufkommen in Verbindung mit steigenden Entsorgungskosten), müssen andere oder zusätzliche Verfahrenstechniken angewendet werden. Da die Abtrennung von Schwermetallen aus wässrigen Lösungen außer bei der Behandlung von Bergbauwässern eine Notwendigkeit in zahlreichen anderen Bereichen der industriellen Abwasserreinigung und der Grundwasseraufbereitung ist, stehen prinzipiell andere etablierte Verfahrenstechniken zur Verfügung. Dabei stellen sich in den Anwendungsgebieten sehr unterschiedliche Anforderungen, die sich letztlich in den verfahrenstechnischen Vorgehensweisen widerspiegeln. Die Tauglichkeit dieser i.d.R. physikalisch-chemischen Verfahren für die Reinigung von Bergbauwässern muss in den speziellen Fällen geprüft werden. Zu den technisch nutzbaren Möglichkeiten zählen u.a. die in Tabelle 1.5 genannten Mechanismen bzw. Prozesse [Chmielewski et al. 1996, Gohlke und Otto 2000, Schoemann und Steyn 2001].

Tabelle 1.5:

Physikalisch-chemische Prozesse zur Schwermetalleliminierung

| | |
|-----------------------------|---|
| - Ionenaustauschprozesse | [Feng et al. 2000] |
| - Adsorptionsprozesse | [Apak et al. 1998, Ortiz et al. 2001, Vengris et al. 2001, Cooper et al. 2002] |
| - Membrantrennverfahren | [Chianese et al. 1999] |
| - Reaktivextraktion | [Barthel et al. 1979, Cusack et al. 1992a/b, Woller 1994] |
| - Elektrochemische Prozesse | [Doulakas et al. 2000, Juang und Lin 2000, Arienzo et al. 2001, Bunce et al. 2001, Watanabe et al. 2001, Fischer et al. 2002] |

Im Allgemeinen eignen sich die in Tabelle 1.5 genannten Verfahrenstechniken bei entsprechender Anpassung, um im einzelnen die erforderlichen Einleitegrenzwerte zu erreichen. Wenig aussichtsreich ist jedoch eine Anwendung der Technologien, um komplexe Abwässer zu reinigen. Da sich die relevanten Schwermetalle in ihren

chemischen Eigenschaften stark unterscheiden, werden die Abscheidegrade für die einzelnen Ionen nicht minder voneinander abweichen. Die genannten Verfahren, nicht selten Entwicklungen zur industriellen Prozesswasserreinigung und Reinstwasseraufbereitung, sind darüber hinaus relativ aufwendig zu realisieren, kosten- und energieintensiv. Aus technischen und ökonomischen Gründen sind die oben genannten Verfahren deshalb kaum geeignet zur Reinigung von (geringbelasteten) Bergbauwässern.

Immer häufiger wird das Potenzial biotechnologischer Ansätze hervorgehoben, wodurch Verfahren in Aussicht stehen, die ökologisch und ökonomisch akzeptabler sind [Ehrlich 1997, Lovley und Coates 1997, Gadd et al. 2000, Barkay und Schaefer 2001, Lloyd und Lovley 2001]. Zu den potenziellen Vorteilen dieser Ansätze zählt häufig eine Senkung der Betriebskosten, da z.B. teure technische Betriebsmittel durch preisgünstige Biomasse ersetzt werden können. Die wesentlichen biotechnologisch nutzbaren Mechanismen beruhen auf der Fähigkeit biogener Materialien, gelöste Schwermetallionen zu adsorbieren (Biosorption) oder in bestimmten Fällen innerhalb der metabolisch aktiven Zelle zu akkumulieren (Bioakkumulation) oder durch enzymatische Aktivität zu reduzieren (Bioreduktion). Eine technische Nutzbarmachung von Biosorptionsprozessen² und auch Bioakkumulationsprozessen³ oder Bioreduktionsprozessen wird in sehr unterschiedlichen Ansätzen angestrebt [z.B. Volesky 1990, Gupta et al. 2000]. Viele Untersuchungen verfolgen den Einsatz von kostengünstigen organischen Materialien zur Biosorption von Schwermetallionen. Hierzu zählen beispielsweise Torf [Brown et al. 2000], Kohle [Burns et al. 1999], Kork [Villaescusa et al. 2002] oder unterschiedliche Abfall-Biomasse (z.B. Belebtschlamm, Pflanzenreste) [Utgikar et al. 2000, El-Shafey et al. 2002, Schneider et al. 2002]. Bakterienzellen, Algen und Hefezellen werden ebenfalls als Sorptionsmaterialien eingesetzt [Stoll und Duncan 1997, Chong et al. 2000, Bayhan et al. 2001, Costley und Wallis 2001]. Verschiedene Ionen (z.B. U(VI) und Cr(VI)) können infolge intrazellulärer Akkumulation und / oder enzymatischer Reduktion aus dem Abwasserstrom entfernt werden [Lovley 1995, Bender et al. 2000, Pietzsch 2000]. Es wird auch angestrebt, mikrobiell synthetisierte Verbindungen als Adsorptionsmaterialien für Schwermetalle nutzbar zu machen und eine biotechnologische Umsetzung in Anwesenheit der lebenden Zellen zu erreichen [Macaskie et al. 1992, Gutnick und Bach 2000, Basnakova und Macaskie 2001, Mejare und Bülow 2001].

Die meisten dieser Arbeiten haben noch nicht den Status einer verfahrenstechnischen Umsetzung erreicht. Darüber hinaus werden oft sehr spezielle Problemfälle, d.h. gut definierte Abwässer behandelt, so dass eine spätere Anwendbarkeit zur Reinigung der in Tabelle 1.2 genannten komplexen Abwässer generell zweifelhaft ist.

² Passiver Prozess, Abscheidung der Metallionen aus der wässrigen Lösung durch Adsorption an eine organische Oberfläche

³ Aktiver Prozess, Abscheidung der Metallionen aus der wässrigen Lösung durch Transport in die Zelle

In technisch weiter fortgeschrittenen Arbeiten wurde gezeigt, dass bestimmte Pflanzen (z.B. *Salix phylicifolia*, *Salix borealis*, *Eriophorum angustifolium*, u.a.) eine sehr hohe Kapazität zur Akkumulation unterschiedlicher Schwermetalle in den einzelnen Pflanzenteilen haben [Cheng et al. 2002, Löser et al. 2002, Stoltz und Greger 2002, Susarla et al. 2002]. In den letzten Jahren wurde daher verstärkt versucht, das Potenzial von Pflanzen zur Akkumulation von Schwermetallen in der Umsetzung von *Constructed Wetlands* (siehe unten) zu nutzen.

Ebenfalls technisch nutzen lässt sich die Stoffwechselaktivität *Sulfatreduzierender Bakterien* (SRB). Durch die sulfidogene Reduktion von gelöstem Sulfat können Schwermetalle in sulfidischer Bindung aus der wässrigen Phase abgetrennt werden (vgl. Abschnitt 1.3). Wie bereits in Tabelle 1.4 dargestellt ist die Bindung verschiedener relevanter Schwermetalle in sulfidischer Form ein sehr effektiver Mechanismus zur Senkung der Schwermetallkonzentrationen. Mikrobielle Sulfatreduktion, d.h. Desulfurikation oder Sulfidogenese, als Möglichkeit zur biotechnologischen Reinigung von Bergbauwässern wird in zahlreichen Fällen als Methode der Wahl diskutiert [z.B. Wakao et al. 1979, Höfer et al. 1998, Glombitza 2001].

Im Allgemeinen hängen die Kosten der Abwasseraufbereitung von der verfahrenstechnischen Umsetzung der jeweiligen Mechanismen ab. Gerade bei der Konzipierung biotechnologischer Prozesse wird daher angestrebt, *Aktive Verfahren* durch *Passive Verfahren* zu ersetzen⁴.

1.2.2 Aktive Verfahren

In der überwiegenden Anzahl der Fälle einer Schwermetalleliminierung aus Abwässern oder Prozesswässern im industriellen Bereich handelt es sich um sogenannte *Aktive Verfahren*. Diese herkömmlichen Konzeptionen beruhen auf einer regelungstechnischen Stabilisierung bzw. Optimierung der notwendigen Prozessbedingungen in einem möglichst gut definierten System. In der Regel ist das verfahrenstechnische Ziel eine Maximierung der entsprechenden Umsatzraten (*High-Rate Process*) [z.B. Hulshoff Pol et al. 2001]. Die technische Umsetzung eines *Aktiven Verfahrens* ist i.d.R. verbunden mit entsprechend hohen Investitionskosten (Reaktortechnik, Regelungstechnik) und Betriebskosten (Betriebsmittel, Personalkosten).

1.2.3 Passive Verfahren

Während im industriellen Bereich *Aktive Verfahren* dominieren, haben in den vergangenen Jahren *Passive Verfahren* zur Behandlung unterschiedlicher schwermetall-

⁴ die Begriffe des *Passiven Verfahrens* und des *Aktiven Verfahrens* werden hier nicht im Sinne einer verfahrenstechnischen Definition gebraucht. Es handelt sich vielmehr um Begriffe, die entsprechend der gegenwärtigen wissenschaftlich-technischen Diskussion zur begrifflichen Unterscheidung technischer Herangehensweisen eingesetzt werden. So ist das *Passive Verfahren* hier auch verstanden als *langzeitstabiles Verfahren*.

haltiger Bergbauwässer an Bedeutung gewonnen [z.B. Kießig und Herrmann 2000, Kalin 2001]. Der Vorteil *Passiver Systeme* ist zunächst ökonomischer Natur, es handelt sich i.d.R. um *Low-Cost-Technologien*. In *Passiven Verfahren* wird nicht in erster Linie auf eine Steigerung der Umsatzraten gezielt, sondern angestrebt, notwendige Reinigungsprozesse zu garantieren. Der Aufwand für Reaktor- und Regelungstechnik bei der Umsetzung kann gering gehalten werden, da der Prozess im günstigsten Fall auf selbstregulierenden vom Menschen nicht bewusst beeinflussten biogeochemischen Selbstreinigungsprozessen beruht [z.B. Zaluski et al. 1999, Berbenni et al. 2000, Filz et al. 2001]. Bei einer Nutzung *Passiver Prozesse* ist es besonders wichtig, genaue Kenntnisse der biologischen und chemischen Mechanismen zu haben, um die Möglichkeiten zur technischen Gestaltung des Prozesses zu verbessern.

Neben dem Begriff des *Passiven Verfahrens* werden gegenwärtig häufig die Termini *Constructed Wetland*, *Reactive Wall* und *Natural Attenuation* genannt. Hinter diesen Begriffen verbirgt sich insgesamt das Bestreben, natürliche Selbstreinigungsprozesse zur Beseitigung von Kontaminationen in der Umwelt zu nutzen. Die wissenschaftliche anwendungsorientierte Diskussion hierzu befindet sich derzeit noch in einem Stadium, die bisherigen Ergebnisse zu bewerten, um das Potenzial zur Reinigung metallbelasteter Wässer zu ermitteln [Stark et al. 1994, Tarutis Jr. et al. 1999, Röhling und van Verseveld 2002]. Einer Behandelbarkeit metallbelasteter Grundwässer *in-situ* durch *Natural Attenuation* wird jedoch an anderer Stelle wenig Erfolgsaussicht im Vergleich zu organisch belasteten Wässern eingeräumt [Rittmann 2000]. Zu den wichtigen Verfahrenskonzeptionen zur *Passiven Reinigung* von schwermetallhaltigen Bergbauwässern zählen oben genannte *Constructed Wetlands* und *Reaktive Wände*.

Constructed Wetlands

Der technische Begriff *Constructed Wetland* bezeichnet gezielt zur *passiven* Wasserbehandlung errichtete Feuchtraumbiotope. Die konstruktiven Details dieser Reaktoren sind je nach Reinigungsaufgabe festzulegen und variieren stark⁵. Es wurde festgestellt, dass *Constructed Wetlands* potenziell geeignet sind, die Schwermetallfrachten metallbelasteter Wässer unterhalb der erforderlichen Grenzwerte zur Direkt- bzw. Indirekteinleitung zu senken [z.B. Mays und Edwards 2000]. Jedoch existieren in den meisten Fällen erkennbare Mängel, die besonders die Verlässlichkeit der Prozessverläufe betreffen [Barton und Karathanasis 1999, Eger et al. 2000, Goulet et al. 2001]. In verschiedenen Untersuchungen musste eingeräumt werden, dass die Prozesse der Metalleliminierung in *Constructed Wetlands* zum einen nur unzureichend

⁵ z.B. aerobe Wetlands, anaerobe Wetlands, Wetlands mit organischem Substrat, bepflanzte Wetlands [Gerth 2002]

erkannt sind und zum anderen diese *Passiven Systeme* bei schwankenden hydraulischen Belastungen und Schwermetallfrachten problematisch anzupassen sind [Scholes et al. 1998].

Die Strategie zur Schwermetalleliminierung in *Constructed Wetlands* zielt darauf, möglichst vielfältige Mechanismen bereitzustellen und dem physikalisch-chemisch differierenden Verhalten der unterschiedlichen Schwermetallspezies gerecht zu werden. Die wesentlichen Mechanismen sind Fällung, Sorption an organischen und anorganischen Oberflächen und die Akkumulation in Organismen, d.h. Pflanzen und Mikroorganismen.

Auch der Einfluss von mikrobieller Sulfidogenese auf die Festlegung von bestimmten Schwermetallionen wurde in manchen Fällen deutlich hervorgehoben [Machemer und Wildeman 1992, Sobolewski 1996, Fortin et al. 2000, Scholz et al. 2001]. Das Errichten von komplexen Systemen mit dem Ziel, möglichst natürliche botanische und biogeochemische Strukturen zu schaffen, bedeutet jedoch nicht zwingend, dass die Prozessstabilität verbessert wird. Typische Komponenten von *Constructed Wetlands* sind mit Hinblick auf den Gesamtprozess der Schwermetalleliminierung als von geringer Wirkung bzw. sogar als wirkungslos eingestuft worden [Mays und Edwards 2001, Scholz et al. 2001, Scholz und Xu 2002]. Im Gegenteil kann es darüber hinaus durch die unterschiedlichen Prozesskomponenten zu konkurrierenden Prozessen kommen, die festgelegte Metallverbindungen in lösliche ionische Formen rückführen, z.B. durch Komplexierung durch organische Moleküle [Walker und Hurl 2002]. Auch entziehen sich die errichteten Systeme aufgrund ihrer Komplexität späteren regelungstechnischen bzw. anderen stabilisierenden Eingriffen und bieten damit ein relativ hohes Gefährdungspotenzial, sobald es zu Instabilitäten kommt. Darüber hinaus sind die errichteten Systeme bezogen auf ihre Kapazität zur Schwermetallakkumulation begrenzt, da Schwermetalle nicht wie organische Verbindungen abgebaut werden können, und auch keine technischen Möglichkeiten vorhanden sind, festgelagerte Metalle selektiv aus dem System zu entfernen. Man ist sich hingegen bewusst, dass die Behandlung der Abwässer langfristig, d.h. über viele Jahrzehnte, erfolgen muss [Eger et al. 2000, Banwart und Malmström 2001].

Die drei oben genannten Einwände gegen *Constructed Wetlands* als *Passive Verfahren* zur Schwermetalleliminierung aus Bergbauabwässern

- hohe Komplexität des Systems
- beschränkte Kapazität zur Schwermetallimmobilisierung
- fehlender regelungstechnischer Zugang

stellen diese Verfahren für die Behandlung von schwermetallbelasteten Bergbauabwässern hinsichtlich ihrer Konzeption jedoch vielmehr hinsichtlich ihrer technischen Umsetzung in Frage.

Reaktive Wände

Es existieren verschiedene technisch fortgeschrittene Ansätze zur Schwermetalleliminierung aus Bergbauwässern mit Hilfe sogenannter *Reaktiver Wände* oder *Reaktiver Barrieren*. Bei diesen Verfahren werden reaktive Materialien unmittelbar in die wasserleitende Schicht eingebracht. Diese Verfahren zielen also im Gegensatz zu den bisher genannten Technologien grundsätzlich auf eine *In-situ*-Behandlung von belasteten Grund- und Grubenwässern. Die verwendeten anorganischen oder organischen Materialien haben dabei i.d.R. entweder die Fähigkeit, Schwermetalle zu sorbieren (z.B. Rotschlamm und Flugasche [Zoumis et al. 2000]), gelöste Schwermetalle infolge von Redoxreaktionen zu immobilisieren (z.B. Fe(0) [Blowes et al. 1997, Gu et al. 1999, Lutze 2000]), oder es handelt sich um organische Materialien, die gezielt die mikrobielle Aktivität (z.B. Sulfatreduktion) steigern sollen (z.B. Kompost, Klärschlamm, Holz u.a. [Waybrant et al. 1998, Benner et al. 1999, 2002, Cocos et al. 2002]). Die oben genannten Nachteile bezogen auf *Constructed Wetlands* betreffen weitgehend auch *Reaktive Wände*.

Deutlich wird sowohl beim Vergleich der unterschiedlichen Mechanismen zur Schwermetalleliminierung als auch aus dem Stellenwert in den genannten technischen *Passiven Prozessen* (*Constructed Wetlands* und *Reaktive Wände*), dass mikrobielle Sulfatreduktion, d.h. die Stoffwechselaktivität von SRB, offensichtlich eine effektive und damit vielversprechende Möglichkeit zur Reinigung komplexer schwermetallbelasteter Bergbauwässer darstellt. Im folgenden Abschnitt wird näher auf die Grundlagen dieses Prozesses und Möglichkeiten der technischen Anwendung eingegangen.

1.3 Mikrobielle Sulfatreduktion

1.3.1 Mechanismus

Biologische Sulfatreduktionsverfahren gründen sich auf die Stoffwechselaktivität *Sulfatreduzierender Bakterien* (SRB), auch bezeichnet als Desulfurikanten. Diese Organismen nutzen unter anaeroben Bedingungen und unter Verbrauch eines geeigneten Elektronendonors Sulfat dissimilatorisch als terminalen Elektronenakzeptor⁶. Der mikrobiellen Sulfidogenese folgt extrazellulär als ionische Reaktion die Schwermetallfällung durch Bildung von Schwermetallsulfiden.

Die biochemischen, mikrobiell vermittelten, und die ionischen Reaktionen lassen sich prinzipiell durch zwei Gleichungen beschreiben, beispielsweise unter Annahme von Lactat als reduziertem Substrat und Acetat als oxidiertem Produkt (siehe Gleichungen 1.1 und 1.2)

⁶ Auch assimilatorisch wird Sulfat zur Synthese biochemisch relevanter schwefelhaltiger Verbindungen verbraucht, jedoch in wesentlich geringeren Mengen verglichen mit der dissimilatorischen Sulfatreduktion.



Auf weitere Details zur mikrobiellen Sulfatreduktion wird am Ende dieses Abschnittes eingegangen werden.

1.3.2 Technische Umsetzung im *Aktiven Verfahren*

Biologische Sulfatreduktionsverfahren, die zur Schwermetalleliminierung eingesetzt werden, müssen zwingend folgende Prozessstufen technisch berücksichtigen: die Bereitstellung von Substrat als Kohlenstoff- und Energiequelle für SRB, die eigentliche Sulfatreduktion, die Schwermetallfällung und die Abscheidung der metallhaltigen Präzipitate.

In der Mehrzahl sind die gegenwärtigen technischen Anwendungen mikrobieller Sulfatreduktion zur Reinigung schwermetallhaltiger Abwässer als klassische biotechnologische Verfahren (*Aktive Verfahren*) konzipiert [Hulshoff Pol et al. 1998, Lens et al. 1998, Nakamura 1988, Glombitza 2001]. Ihre Realisierung ist dementsprechend mit hohen Investitions- und Betriebskosten (z.B. Anlagenkosten, Kosten für Mess- und Regelungstechnik) verbunden.

In Abbildung 1.1 ist das Fließbild einer möglichen verfahrenstechnischen Realisierung dargestellt [Glombitza 2001].

Hervorzuheben sind für diese Konzeption zwei charakteristische Merkmale:

1. Sulfatreduktion und Schwermetalleliminierung sind als zwei getrennte Prozessstufen realisiert, die Metallfällung ist der Sulfatreduktion vorgeschaltet, vorrangig um der biologischen Stufe keine toxischen Schwermetallkonzentrationen zuzuführen.
2. Sulfid muss aus der biologischen Stufe entfernt und in die Fällungsstufe zurückgeführt werden. Dies kann gelöst in einem Teilstrom des Reaktorablaufs geschehen oder als H_2S nach Stripping über die Gasphase. H_2S kann bereits in geringen Konzentrationen inhibierend auf Mikroorganismen wirken und Prozessstörungen verursachen [z.B. Maillacheruvu und Parkin 1993, Dries et al. 1998, Lens et al. 1998, Hulshoff Pol et al. 2001]. Aufgrund der starken Geruchsbelästigung und Humantoxizität muss eine Freisetzung technisch verhindert werden. Mit steigenden Sulfatkonzentrationen im Zulauf muss zwingend die zweite, energieintensivere Möglichkeit zur Sulfideliminierung, d.h. die Stripping gewählt werden⁷.

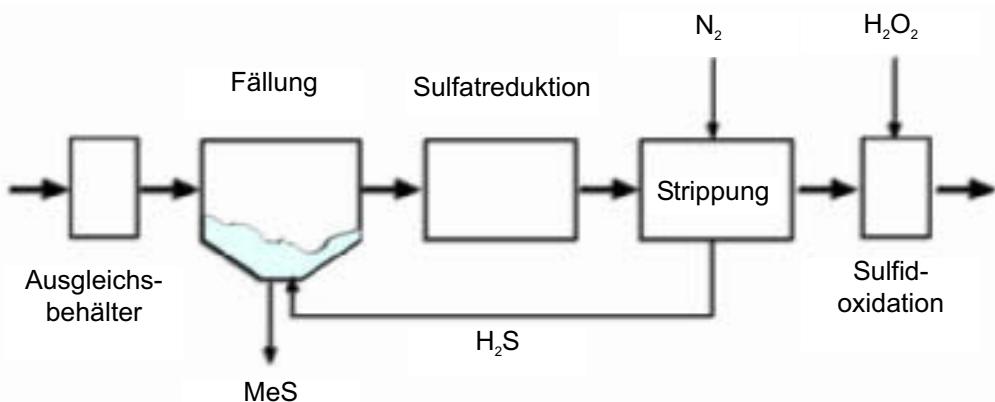


Abbildung 1.1:

Möglichkeit einer verfahrenstechnischen Umsetzung mikrobieller Sulfatreduktion (verändert nach [Glombitza 2001])

Für die Behandlung von gering schwermetallbelasteten Abwässern ist aufgrund des technischen Aufwandes und der damit verbundenen Kostenintensität die dargestellte verfahrenstechnische Umsetzung schwer zu rechtfertigen [Rose et al. 1998, Hulshoff Pol et al. 2001]. Die Entwicklung von ökonomisch sinnvolleren Möglichkeiten der Prozessgestaltung als *Aktivem Verfahren* wird z.Z. vorrangig mit der alternativen Verwendung besonders kostengünstiger Substrate (z.B. Molke oder Methanol) verfolgt [z.B. Christensen et al. 1996, Höfer et al. 1998, Glombitza 2001]. Darüber hinausgehend ist eine Vereinfachung der verfahrenstechnischen Umsetzung im Ansatz eines *Passiven Verfahrens* ein vielversprechender Ansatz gerade zur Behandlung geringbelasteter Bergbauwässer.

1.3.3 Technische Umsetzung im *Passiven Verfahren*

Mikrobielle Sulfatreduktion als Komponente eines *Passiven Verfahrens* wird in vorrangig jüngeren Arbeiten untersucht, in denen *Feste Substanzgemische* (FSG) mit hohem organischen Anteil als Kohlenstoff- und Energiequelle für *Sulfatreduzierende Bakterien* (SRB) getestet wurden. Diese Substanzgemische (z.B. Heu [Zaluski et al. 1999] oder Kompost [Chang et al. 2000]) fallen i.d.R. kostengünstig in der Industrie oder Landwirtschaft an und sollen so gewählt sein, dass SRB bei einmaliger Vorlage

⁷ Letztgenannter Aspekt muss bei der Behandlung von Bergbauabwässern mittels mikrobieller Sulfatreduktion besonders beachtet werden, da ein erhebliches stöchiometrisches Ungleichgewicht zwischen den Konzentrationen der zu eliminierenden Schwermetallionen und der Sulfatkonzentration besteht. Der größte Anteil der Sulfatkonzentration liegt als freies Sulfat vor, so daß gilt:

$$c_{\text{Me}^{2+}} \ll c_{\text{SO}_4^{2-}} \quad \text{Gleichung 1.3}$$

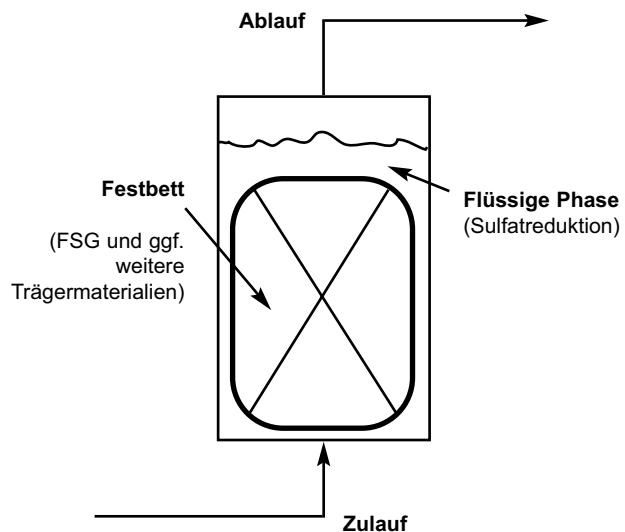
Da das Reinigungsziel Schwermetalleliminierung vorrangig ist, muss die mikrobielle Sulfatreduktion *kontrolliert* ablaufen, d.h. muss in Relation zu den Schwermetallkonzentrationen limitiert sein. Überschüssig gebildetes Sulfid müßte verfahrenstechnisch eliminiert werden.

des FSG kontinuierlich mit Substrat versorgt werden.

Diese Arbeiten, sofern sie auf die Entwicklung von Technologien zielen, konzentrieren sich vorrangig auf einstufige Verfahren und haben entfernt konzeptionelle Ähnlichkeit zu den oben genannten *Constructed Wetlands* (siehe Abbildung 1.2).

Abbildung 1.2:

Einfacher Aufbau zur technischen Umsetzung mikrobieller Sulfatreduktion im *Passiven Verfahren*



Abgesehen von der grundlegenden Problematik, geeignete FSG zu ermitteln, zeichnen sich in den experimentellen Arbeiten technische Probleme wie schwankende Substratkonzentrationen oder Versauerung infolge der Bildung organischer Säuren ab, die zunächst einer verfahrenstechnischen Umsetzung im Weg stehen. Diese Prozesse, resultierend aus komplexen mikrobiologischen Interaktionen, sind jedoch gleichzeitig notwendig für die Substratbereitstellung für SRB und damit letztlich grundlegend für die Funktionalität des technischen Prozesses. Sobald also bei der ingenieurtechnischen Gestaltung des Verfahrens mikrobielle Sulfatreduktion an den ebenfalls mikrobiellen Abbau polymerer organischer Verbindungen gekoppelt werden soll, müssen die mikrobiologischen Besonderheiten des Systems genau beachtet werden. Basierend auf diesen besonderen Ansprüchen des biologischen Systems gilt es, die funktionalen Stufen bzw. Module (Sulfidogenese, Schwermetallfällung, Sulfidelimation) verfahrenstechnisch so zu gestalten, dass diese und andere Nachteile im Rahmen eines *Passiven Verfahrens* umgangen werden können.

Mikrobiologische Besonderheiten

Der oben dargestellte technische Prozess beruht auf der Funktionalität eines komplexen Systems mikrobieller Reaktionen mit der eigentlichen Sulfatreduktion als terminalem elektronenakzeptierendem Reaktionsschritt.

Potenzielle Substrate für mikrobielle Sulfatreduktion

Sulfatreduzierende Bakterien zeigen eine hohe Diversität in bezug auf mögliche Kohlenstoff- und / oder Energiequellen. Zu den verwertbaren Verbindungen zählen anorganische Verbindungen wie H_2 und CO und organische Moleküle wie z.B. Fettsäuren,

Alkohole, Aminosäuren und Zucker [z.B. Widdel 1980, Hansen 1993]. Damit stehen beim Abbau von FSG mit hohem Anteil polymerer Verbindungen in Anwesenheit einer geeigneten anaeroben Mischkultur zu jedem Zeitpunkt potenziell eine Reihe von Verbindungen infolge von Hydrolyse und Fermentation (im biochemischen Sinne) für die mikrobielle Sulfatreduktion zur Verfügung. Die Versorgung der SRB mit Substrat hängt damit aber ebenfalls zu jedem Zeitpunkt von einer Interaktion verschiedener Organismen ab. Mikrobiologisch betrachtet, beruht das vermeintlich einfache technische System absehbar auf einem wesentlich komplexeren mikrobiellen System (siehe Abbildung 1.3).

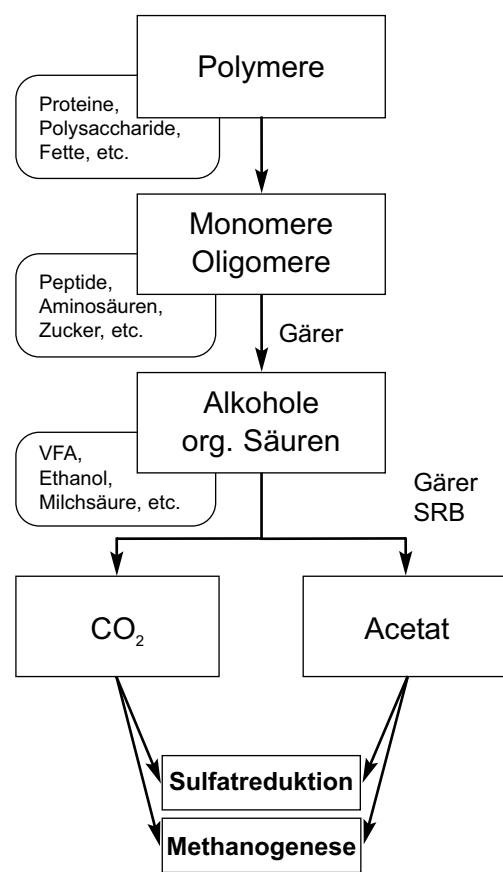


Abbildung 1.3:

Anaerober Abbau polymerer Verbindungen

Anaerober Abbau polymerer Verbindungen

Unter aeroben und anaeroben Bedingungen werden polymere Verbindungen unter Beteiligung unterschiedlicher Mikroorganismen schrittweise umgesetzt (vgl. Abbildung 1.3). Nach der enzymatischen hydrolytischen Umsetzung polymerer Verbindungen wie Proteinen oder Polysacchariden werden diese durch fermentierende Mikroorganismen zunächst zu Monomeren (z.B. Zucker oder Aminosäuren) umgesetzt. Diese Verbindungen werden wiederum fermentativ und häufig unter Bildung von molekularem Wasserstoff (H_2) zunächst zu niedermolekularen Verbindungen wie organischen Säuren oder Alkoholen (z.B. VFA oder Ethanol) und im nächsten Schritt zum Acetat abgebaut. Die Menge an konservierbarer Energie ist für die einzelnen beteiligten Organismen stark abhängig von den Umgebungsbedingungen und insbesonders vom Wasserstoffpartialdruck.

Bedeutung des Elektronentransfers in komplexen Mischkulturen

SRB konkurrieren mit anderen anaeroben Mikroorganismen um im System verfügbare Energie, d.h. um Elektronen. Die effektive Gestaltung eines technischen Prozesses,

der mikrobielle Sulfatreduktion an den Abbau polymerer organischer Verbindungen koppelt, erfordert letztlich unabhängig vom tatsächlichen Substrat einen optimalen Elektronentransfer zum terminalen elektronenakzeptierenden Reaktionsschritt Sulfat-reduktion. Dabei ist im Verlauf der mikrobiell katalysierten Reaktion ein Verlust an Elektronen an andere terminale Reaktionen, z.B. Methanogenese oder Homo-acetogenese, zu vermuten. Diese Verluste müssen auf ein Minimum beschränkt werden, um die Prozesseffektivität und Prozessstabilität zu optimieren. Das heißt: Kommt es im Prozessverlauf zu einer Phase der Substratlimitation, muss gewährleistet sein, dass mikrobielle Sulfatreduktion der terminale elektronenakzeptierende Stoffwechsel-schritt ist. Letztlich ist die biotechnologische Aufgabe eine effektive Kopplung der anaeroben mikrobiellen Prozesse. Der Umsatz von organischen Säuren und Alkoholen durch SRB ist in Anwesenheit für Bergbauwässer typischer hoher Sulfatkonzentrationen, d.h. hoher Konzentrationen des Elektronenakzeptors, in vielen Fällen zumindest thermodynamisch gegenüber direkten Konkurrenzreaktionen begünstigt, so dass im Prozessverlauf eine selektive Anreicherung einer sulfatreduzierenden Mischpopulation erreicht werden kann. So sind es gerade die niedermolekularen Verbindungen, z.B. VFA und kurzkettige Alkohole, die mit dem Elektronenakzeptor Sulfat energetisch begünstigt umgesetzt werden können (siehe Tabelle 1.6).

Tabelle 1.6:

Relevante Kohlenstoff- und Energiequellen und zugehörige ΔG° -Werte⁸ (25 °C, pH 7, 1 atm; nach [Thauer et al. 1977])

| | Fermentation | Homoacetogenese | Sulfatreduktion |
|----------------------|--|--|--|
| | ΔG° (kJ*mol ⁻¹) (Produkt) | ΔG° (kJ*mol ⁻¹) (Produkt) | ΔG° (kJ*mol ⁻¹) (Produkt) |
| H₂ | / / | - 26,15 (Acetat) | - 38,04 (H ₂ O, HS) |
| Acetat | + 104,6 (HCO ₃ ⁻) | / / | - 47,61 (HCO ₃ ⁻ , HS) |
| Propionat | + 76,1 (HCO ₃ ⁻ , Acetat) | / / | - 37,64 (Ac., HCO ₃ ⁻ , HS) |
| Butyat | + 48,1 (Acetat) | / / | - 27,78 (Acetat, HS) |
| Lactat | - 4,2 (HCO ₃ ⁻ , Acetat) | / / | - 80,04 (HCO ₃ ⁻ , Acetat) |

Interspecies Hydrogen Transfer und Syntrophe

Besondere Beachtung muss neben der Bereitstellung von VFA und Alkoholen als Energiequellen für SRB der Übertragung von Wasserstoff zwischen gärenden Mikro-organismen und SRB geschenkt werden. Die Stabilität anaerober biologischer Systeme beruht häufig auf einem Transfer des molekularen Wasserstoffs (*Interspecies Hydrogen Transfer*). Der fermentative Abbau von VFA und Alkoholen, aber auch der Abbau von beispielsweise Glucose unter Bildung von H₂ ist nur möglich bei niedrigen

⁸ zur Berechnung wurden die dissoziierten Formen der organischen Säuren angenommen

Wasserstoffpartialdrücken, da nur in diesen Fällen die Reaktionen exergon werden. Sekundäre Gärer sind daher angewiesen auf die Aktivität hydrogenotropher Organismen, z.B. SRB oder MPB. Diese Abhängigkeit zwischen H₂-produzierenden und H₂-zehrenden Organismen (Syntrophie) hat einen hohen Stellenwert in anaeroben Systemen [z.B. Gottschalk 1986, Schink 1997, 2002, Galushko und Schink 2000].

Biotechnologische Besonderheiten

Aus ingenieurtechnischer Sicht muss bei der Entwicklung des Verfahrens die Prozesssicherheit, d.h. besonders die Stabilität des Reinigungsprozesses ins Auge gefasst werden, so dass eben eine Abwasserbehandlung durch beispielsweise *Constructed Wetlands* (vergleiche Abschnitt 1.2), die keine regelungstechnischen Möglichkeiten zum stabilisierenden Eingriff in den Prozess bietet, als riskant eingestuft werden muss [Eger et al. 2000]. Erschwerend kommt im Fall der biotechnologischen Behandlung von Bergbauwässern mittels mikrobieller Sulfatreduktion hinzu, dass mit Schwermetallen und Sulfid bzw. Schwefelwasserstoff zwei potenziell toxische Einflüsse kontrolliert werden müssen. Aus diesen Gründen kann schon zu diesem Zeitpunkt festgelegt werden, dass bei der Entwicklung eines *passiven* jedoch auch biotechnologischen Verfahrens beachtet werden muss:

- Die relevanten Stoffumsätze müssen durch geeignete Methoden der Modellbildung geprüft werden, um möglichst genaue Kenntnis über chemische und biologische Prozesse zu erlangen.
- Es müssen verlässliche mess- und regelungstechnische Mechanismen vorgesehen werden, um im Falle der Prozessstörung einen prinzipiell *Passiven Prozess*, wenn notwendig *aktiv*, stabilisieren zu können.

1.4 Zielstellung und Vorgehensweise

Im Rahmen dieser Arbeit soll eine Verfahrenskonzeption entwickelt werden, die einerseits eine ergänzende technische Möglichkeit zur Schwermetalleliminierung aus AMD zu herkömmlichen Verfahrenstechniken (Fällung) darstellt. Andererseits soll eine effektive Behandelbarkeit neutraler Bergbauwässer (NMD) ermöglicht werden.

Eine Weiterentwicklung des in Abschnitt 1.3 dargestellten Ansatzes zur *Passiven Reinigung* von Bergbauwässern mittels mikrobieller Sulfatreduktion wird im Vergleich zu den genannten Alternativen als vielversprechend zur Gestaltung eines kontinuierlichen Prozesses zur langfristigen Behandlung der Wässer angesehen. Im Kern der Entwicklung steht dabei die Absicht, Vorteile sowohl *Aktiver Verfahren* als auch *Passiver Verfahren* zu kombinieren und eine Konzeption für ein *Passives Biotechnologisches Verfahren* zu entwickeln. Die (experimentelle) Vorgehensweise umfasst die in Tabelle 1.7 dargestellten Arbeitsschritte.

Tabelle 1.7:

Zielstellung und (experimentelle) Vorgehensweise

1. Konzipierung der Technologie

Die notwendigen Prozessstufen und deren Anordnung müssen basierend auf bisherigen Ergebnissen anderer Studien geplant werden. Besonders muss eine Abschätzung des Potenzials zur Selbststabilisierung basierend auf den mikrobiologischen Besonderheiten des Systems stattfinden.

2. Auswahl und Erprobung des Festen Substanzgemisches (FSG)

Es muss eine Auswahl und Erprobung geeigneter Substanzgemische (möglichst industrielle Ab- und Nebenprodukte) stattfinden. Dabei sollen besonders die Kriterien

- Kosten und Verfügbarkeit
- Bereitstellung und Verfügbarkeit von DOC für Sulfatreduktion
- Verhalten gegenüber gelösten Schwermetallen

berücksichtigt werden.

3. Entwicklung und Erprobung einer technischen Umsetzung des kontinuierlichen Prozesses zur Behandlung schwermetallhaltiger Wässer

Basierend auf der unter 1. entwickelten Konzeption und anderen Studien soll eine Möglichkeit zur verfahrenstechnischen Umsetzung im Labormaßstab entwickelt werden. Der Prozess soll in diesem Maßstab umgesetzt und kontinuierlich betrieben werden, um das Konzept auf seine Tauglichkeit zu testen.

4. Selbststabilisierung und ergänzende technische Stabilisierbarkeit des kontinuierlichen Prozesses

Anspruch an den technischen Prozess ist die Fähigkeit zur Selbststabilisierung bzw. eine leichte Stabilisierbarkeit durch diskontinuierliche regelungstechnische Eingriffe. Die Möglichkeiten hierzu sollen im kontinuierlichen Prozess geprüft werden.

5. Untersuchung der Stoffflüsse mikrobiell katalysierter Reaktionen unter Beachtung der biotechnologischen Besonderheiten

Aufgrund der Komplexität des biologischen Systems auch in Verbindung zu anorganischen Matrices (z.B. metallsulfidische Sedimente) müssen zur Abschätzung der Prozessstabilität die zentralen biologischen Stoffflüsse qualitativ und quantitativ erfaßt werden.

6. Modellierung und Simulation des Prozesses

Basierend auf den Ergebnissen in 5. soll ein simulationstaugliches Modell entwickelt werden, das die zentralen stabilisierenden bzw. destabilisierenden Einflüsse erfaßt und bewertet.

7. Konzipierung einer verfahrenstechnischen Umsetzung

Aus den experimentellen und simulierten Daten sollen Ansprüche und Möglichkeiten einer verfahrenstechnischen Umsetzung untersucht werden.

2 Material und Methoden

2.1 Mikroorganismen und Stammhaltung

Die ursprünglich eingesetzten sulfatreduzierenden Kulturen wurden der Stammhaltung des UFZ entnommen. Es handelte sich hierbei um Isolate, die aus unterschiedlichen Habitaten, auch vielen Bergbaustandorten isoliert worden sind. Die einzelnen Isolate wurden als Mischkultur (MK I) in den Untersuchungen verwendet. In allen technisch orientierten Versuchen wurde MK I durch Mischkulturen aus dem Schlamm einer Biogasanlage (MK II) und dem Rücklaufschlamm einer Belebungsstufe einer kommunalen Kläranlage (MK III) ergänzt. Die so zusammengesetzte Mischkultur wurde nach Vorkultivierung (siehe Abschnitt 2.3) eingesetzt und im Verlauf der kontinuierlichen Versuche hinsichtlich der gewünschten Fähigkeiten selektiert und optimiert (vgl. Abbildung 2.1). Mischkulturen aus unterschiedlichen Prozessstufen sind in der UFZ-Stammhaltung hinterlegt.

Die Kultur *Syntrophomonas wolfei* spp. *wolfei*, DSM 2245A, wurde von der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, DSMZ (Braunschweig) bezogen.

Die Stammhaltung der Mischkulturen MK I, MK II und MK III erfolgte in randvoll gefüllten DURAN®-Flaschen, in Zentrifugenrörchen in AnaeroJar-Polycarbonattöpfen mit AnaeroGenTM-Anaerobiersystem und in Transfusionsflaschen unter N₂-Atmosphäre jeweils in Flüssigkultur mit Medium SRM bzw. SRM-Fe ohne Trennung vom Sediment. Die Stammhaltung erfolgte jeweils bei Raumtemperatur und gekühlt bei 5°C. Kleinere Volumina wurden tiefkalt in Flüssigstickstoff gelagert.

2.2 Kulturmedien und Lösungen

Flüssigmedien

Im Rahmen dieser Arbeit wurden drei unterschiedliche Kulturmedien verwendet. Die jeweilige Zusammensetzung der Medien SRM und SRM-Fe sind in Tabelle 2.1 und die Zusammensetzung des *Syntrophomonas*-Medium (DSMZ-Medium 212) in Tabelle 2.2 dargestellt.

Die Zugabe löslicher Substrate zu den oben angeführten Medien, die nur für einzelne Experimente eingesetzt wurden, sind in Verbindung zu den jeweiligen Ergebnissen aufgeführt. Einige spezielle Zusätze sind den Tabellen 2.3 und 2.4 zusammengefasst. Bei Zugabe von organischen Säuren wurde die jeweilige Säure dem Medium vor eventueller pH-Einstellung des Mediums zugegeben.

In einigen Versuchen wurde mit einem Gemisch löslicher Substrate, das im folgenden als *Synthetisches Eluat* (SE) bezeichnet wird, (Tabelle 2.4) gearbeitet.

Feste Substanzgemische wurden nach der Trocknung eingewogen und dem Medium direkt zugegeben. In allen kontinuierlichen Versuche wurde das FSG mit autoklaviertem Kies überschichtet, um einen Auftrieb des Materials zu verhindern.

Tabelle 2.1:
Zusammensetzung Medium SRM / Medium SRM-Fe⁹

| | | |
|--|------------------------------------|----------------------|
| Lösung A (Mineralsalz-Lösung) | <chem>CaSO4</chem> | 1,0 g |
| | <chem>NH4Cl</chem> | 1,0 g |
| | <chem>KH4PO4</chem> | 0,5 g |
| | <chem>MgSO4 * 7 H2O</chem> | 2,0 g |
| | Spurenelementlösung SL 10 | 1,0 ml |
| | <chem>H2O</chem> (dest.) | 980,0 ml |
| Lösung B (Fe(II)-Lösung) | <chem>FeSO4 * 7 H2O</chem> | 0,5 g ¹⁰ |
| | <chem>FeCl2 * 4 H2O</chem> | 2,0 mg ¹¹ |
| | <chem>H2SO4</chem> (1M) | 1,0 ml |
| | <chem>H2O</chem> (dest.) | 10,0 ml |
| Lösung C (Reduktionslösung) | Thioglycolsäure-Natriumsalz | 0,1 g |
| | Ascorbinsäure | 0,1 g |
| | Natriumdithionit | 20 mg |
| | <chem>H2O</chem> (dest.) | 10,0 ml |
| Spurenelementlösung SL 10 | Nitrilotriessigsäure | 1,5 g |
| | <chem>MgSO4 * 7 H2O</chem> | 3,0 g |
| | <chem>MnSO4 * 2 H2O</chem> | 0,5 g |
| | <chem>NaCl</chem> | 1,0 g |
| | <chem>FeSO4 * 7 H2O</chem> | 0,1 g |
| | <chem>CoSO4 * 7 H2O</chem> | 0,18 g |
| | <chem>CaCl2 * 2 H2O</chem> | 0,1 g |
| | <chem>ZnSO4 * 7 H2O</chem> | 0,18 g |
| | <chem>CuSO4 * 5 H2O</chem> | 0,01 g |
| | <chem>KAl(SO4) * 12 H2O</chem> | 0,02 g |
| | <chem>H2BO3</chem> | 0,01 g |
| | <chem>Na2MoO4 * 2 H2O</chem> | 0,01 g |
| | <chem>NiCl * 6 H2O</chem> | 0,025 g |
| | <chem>Na2SeO3 * 5 H2O</chem> | 0,3 mg |
| | <chem>H2O</chem> (dest.) | 1000 ml |

⁹ Medien wurden i.d.R nach Herstellung auf pH 7 eingestellt, Ausnahmen hiervon sind gesondert angegeben

¹⁰ nur Medium SRM

¹¹ nur Medium SRM-Fe

Tabelle 2.2:Zusammensetzung *Syntrophomonas*-Medium (DSMZ-Medium 212)

| | | |
|---|---|-----------|
| Lösung A | Mineralsalz-Lösung | 50,0 ml |
| | Spurenelement-Lösung SL 10 (siehe Medium SRM, Tabelle 2.1) | 1,0 ml |
| | Faulturm-Flüssigkeit ¹² (autoklaviert, filtriert) | 50,0 ml |
| | Tryptikase | 1,0 g |
| | Vitamin-Lösung | 5,0 ml |
| | Buttersäure | 1,7 g |
| | Na ₂ SO ₄ | 2,8 g |
| | Resazurin | 1,0 ml |
| | H ₂ O (dest.) | 810 ml |
| Lösung B | NaHCO ₃ | 3,5 g |
| | H ₂ O (dest.) | 70,0 ml |
| Lösung C | Cystein-HCl x H ₂ O | 0,3 g |
| | H ₂ O (dest.) | 10,0 ml |
| Lösung D | Na ₂ S x 9 H ₂ O | 0,3 g |
| | H ₂ O (dest.) | 10,0 ml |
| pH auf 7,2 eingestellt, Gasatmosphäre 80% N₂ + 20% CO₂ | | |
| Mineralsalz-Lösung | KH ₂ PO ₄ | 10,0 g |
| | MgCl ₂ x 6 H ₂ O | 6,6 g |
| | NaCl | 8,0 g |
| | NH ₄ Cl | 8,0 g |
| | CaCl ₂ x H ₂ O | 1,0 g |
| | H ₂ O (dest.) | 1000,0 ml |
| Vitamin-Lösung | Biotin | 0,25 mg |
| | Nicotinsäure | 2,50 mg |
| | Thiamin-HCl x 2 H ₂ O | 1,25 mg |
| | p - Aminobenzoësäure | 1,25 mg |
| | Pantothensäure | 0,62 mg |
| | Pyridoxin-HCl | 6,20 mg |
| | H ₂ O (dest.) | 1000 ml |

¹²DSMZ-Original Medium 212 enthält Pansen-Flüssigkeit anstatt Faulturm-Flüssigkeit

Tabelle 2.3: Einzelne lösliche Substrate

| Substrat | Konzentrationsbereich |
|------------------|---|
| Essigsäure | 2,5 mM - 20,0 mM |
| Propionsäure | 2,5 mM - 20,0 mM |
| Buttersäure | 2,5 mM - 10,0 mM |
| Isobuttersäure | 10,0 mM |
| Valeriansäure | 2,5 mM - 15,0 mM |
| Isovaleriansäure | 10,0 mM |
| Capronsäure | 2,5 mM - 15,0 mM |
| Lactat | Batch: 10,0 mM - 40,0 mM, Fed-Batch: variabel |
| Methanol | nur Fed-Batch: variabel |
| Glucose | 1,9 mM - 5,6 mM |

Tabelle 2.4: *Synthetisches Eluat (SE)*

| Substrat | Konzentrationsbereich |
|---------------|-----------------------|
| Glucose | 1,9 mM - 5,6 mM |
| Essigsäure | 2,5 mM - 12,5 mM |
| Propionsäure | 2,5 mM - 12,5 mM |
| Buttersäure | 2,5 mM - 12,5 mM |
| Valeriansäure | 2,5 mM - 12,5 mM |
| Capronsäure | 2,5 mM - 12,5 mM |

Feste Substanzgemische (FSG)

Es wurden *Feste Substanzgemische* ausgewählt und untersucht, die für Mikroorganismen verwertbare organische Verbindungen enthalten. Zur ersten Auswahl gehörten die Erzeugnisse entsprechend Tabelle 2.5.

Die verwendeten Produkte wurden im Trockenschrank bei 80°C bis 105°C (bis zur Gewichtskonstanz) getrocknet. In den anfänglichen Versuchen zur Erprobung der FSG (Abschnitt 3.2) erfolgte mit Hilfe einer elektrischen Kaffeemühle eine Homogenisierung der Materialien auf eine optisch einheitliche Partikelgröße. Die Produkte wurden vor der Verwendung in den Versuchen nicht sterilisiert.

Synthetische Abwässer

Synthetische Abwässer wurden durch Dosierung unterschiedlicher Schwermetalllösungen (SM I, SM II und SM III) zu Medium SRM bzw. Medium SRM-Fe (Tabelle 2.1) hergestellt. Tabelle 2.6 stellt einen Überblick über die jeweiligen Endkonzentrationen in den Medien nach Zugabe der Lösungen (SM I, SM II, SM III) dar.

Tabelle 2.5:

Vorauswahl der Festen Substanzgemische (FSG)

| Substrat | TC (% w/w) |
|---------------|----------------|
| Silage | 54,75 |
| Bleicherde | 61,18 |
| Biertreber | 60,54 |
| Heu | nicht bestimmt |
| Holzspäne | nicht bestimmt |
| Melasse | 44,69 |
| Presschnitzel | 50,67 |
| Apfeltrester | 55,47 |

Tabelle 2.6:Dosierung Schwermetalllösungen I, II und III (SM I / SM II / SM III) zu Medium SRM zur Herstellung der *Synthetischen Abwässer*

| Salz | SM I | SM II | SM III |
|-----------------------------------|--------|--------|--------|
| $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ | 0,5 mM | 2,5 mM | |
| AsHNa_2O_4 | 1,0 mM | 5,0 mM | |
| KCr_2O_4 | 1,0 mM | 5,0 mM | |
| CuSO_4 | 1,0 mM | 5,0 mM | |
| CuCl_2 | | | 0,2 mM |
| ZnSO_4 | 1,0 mM | 5,0 mM | |
| ZnCl_2 | | | 0,2 mM |
| MgSO_4 | 1,0 mM | 5,0 mM | |
| NiSO_4 | 1,0 mM | 5,0 mM | |
| NiCl_2 | | | 0,2 mM |
| MnSO_4 | 1,0 mM | 5,0 mM | |
| MnCl_2 | | | 0,2 mM |
| PbSO_4 | 1,0 mM | 4,0 mM | |
| Fe(II)SO_4 | 1,0 mM | 5,0 mM | |
| $\text{Fe(III)}_2(\text{SO}_4)_3$ | 0,5 mM | 2,5 mM | |
| Fe(III)Cl_3 | | | 0,2 mM |
| NaCl | 1,0 mM | 5,0 mM | |
| KCl | 1,0 mM | 5,0 mM | |
| CaSO_4 | 1,0 mM | 5,0 mM | |

Synthetische Fällungsschlämme

Zur Herstellung der metallsulfidischen Schlämme wurde eine Vorgehensweise gewählt, die darauf zielte, eine Schlammmatrix mit größtmöglicher Ähnlichkeit zu biotischen Fällungsprodukten in anaeroben Systemen (z.B. anaeroben Sedimenten) zu erhalten. Der Begriff der Ähnlichkeit ist hier angewendet mit Bezug auf die Größe der Oberfläche, die Hydratation der Schlämme, Reaktionsmilieu (Salzgehalt, pH-Wert, Temperatur, Reaktionszeit), Abwesenheit von Sauerstoff, Anwesenheit von Kationen und Bildung von Mischsulfiden (z.B. [NiFe]-S).

Es wurden zunächst in einer 100 ml Transfusions-Flasche in Fällungsreihe 1 (FR₁) bzw. in einer 250 ml Transfusions-Flasche in Fällungsreihe 2 (FR₂) je 100 ml der entsprechenden (sauren) Schwermetalllösungen (bidest. H₂O) vorgelegt (vgl. Tabellen 2.7 und 2.8) Als technisch relevante Schwermetalle bzw. Schwermetallionen wurden in FR₁ Ni(II), Zn(II), Mn(II) und Fe(II) bzw. Fe(III) und Fe(0) eingesetzt. In FR₂ wurden lediglich Ni(II) und Fe(II) in unterschiedlichen Konzentrationsverhältnissen eingesetzt. Die Vorlagegefäße wurden nach Ansetzen der Lösungen mit Chlorbutylgummistopfen verschlossen und mit N₂ entgast und anschließend unter N₂-Überdruck (0,5-1,0 atm) aufbewahrt. Über ein Schlauchsystem, Schlauchmaterial PharMed®, wurde entsprechend den Angaben in den Tabellen 2.7 und 2.8 kontinuierlich (alkalische) Na₂S x 7-9 H₂O-Lösung dosiert. In FR₁ wurde kontinuierlich ein zum Zulauf äquivalentes Volumen an Flüssigkeit aus dem Überstand der Ansätze entfernt, in FR₂ erfolgte die Dosierung ohne Abzug von Medium. Die Dosierungsrationen lagen im Bereich 1,1 ml/h bis 2,2 ml/h¹³.

Nach Abschluss der sulfidischen Fällung und Absetzen der Fällungsprodukte wurde der Überstand kontinuierlich über einen Zeitraum von ca. 60 Tagen mit Medium SRM ausgetauscht, während über den gesamten Zeitraum der N₂-Überdruck in den Gefäßen aufrechterhalten wurde. Ziel dieses Austausches waren neben der Neutralisation der Lösungen und der Entfernung gelöster potenziell toxischer Verbindungen (Schwermetallionen, Schwefelwasserstoff) die Ausbildung und Stabilisierung der gewünschten Strukturen durch *in-situ*-Schlammalterung und die Bildung von Mischsulfiden infolge der kontinuierlichen Dosierung des eisenhaltigen Mediums. Die Dosierungsrationen lagen im Bereich 5,8 ml/h bis 8,2 ml/h. In regelmäßigen Abständen wurde die kontinuierliche Dosierung unterbrochen und überprüft, ob sich das jeweilige System hinsichtlich des pH-Wertes dem gewünschten Gleichgewicht annäherte.

¹³ Im Neutralisationsverlauf kam es zu sehr unterschiedlichen Entwicklungen des pH-Wertes. Insbesondere fiel auf, daß in FR₂ die Ansätze mit ähnlichen molaren Konzentrationen an Ni(II) und Fe(II) frühzeitig stabil im Bereich pH 7,0 - pH 7,5 eingestellt werden konnten, während die Ansätze mit ursprünglich ausschließlich Zugabe von Ni(II) oder Fe(II) deutlich höhere pH-Werte im Bereich pH 8,0 bis pH 9,0 hatten. Der Überschuß an Hydroxidionen wurde erst nach einer Reaktionszeit von ca. 60 Tagen stabil ausgeglichen. Die Unterschiede im Fällungsverlauf konnten zunächst nicht geklärt werden. Obwohl keine Kohlenstoff- und Energiequelle zugegeben und nur sehr geringe Konzentrationen an Carbonat im Medium vorhanden waren, konnte im Verlaufe der Neutralisation mikroskopisch eine Kontamination festgestellt werden. Es bestand nach erster Einschätzung die Möglichkeit, dass im Verlauf der Fällung H₂ durch Reduktion von FeS durch H₂S unter Bildung von FeS₂ in relevanten Konzentrationen entstanden war und als Elektronendonator für mikrobielle Reaktionen zur Verfügung stand. War dies der Fall könnte dies zur Destabilisierung des pH-Wertes beigetragen haben, ohne jedoch die Abweichungen quantitativ erklären zu können. Die Verläufe konnten auch darauf hindeuten, dass die Zusammensetzung der Fällungsprodukte sich voneinander unterschied und die Schlämme eine unterschiedliche Kapazität zur Bindung freier Sulfidionen aufwiesen.

Tabelle 2.7:Vorgehen bei Herstellung der metallsulfidischen Suspensionen, Fällungsreihe 1 (FR₁)

| | | Fe(0) | | MnS | | NiS | | FeS | | ZnS | |
|-----------|--|---|--------|-------------------|--------|--|--------|-------------------|--------|-------------------|--------|
| Vorlage | 200 mM Me ^{x+} -Lösung (100 ml) | Fe(0) ¹⁴ | 1,12 g | MnCl ₂ | 2,52 g | NiCl ₂ ·x 6 H ₂ O | 4,75 g | FeCl ₃ | 3,24 g | ZnCl ₂ | 2,73 g |
| Fällung | 200 mM S ²⁻ -Lösung | Na ₂ S · 7-9 H ₂ O | | | | | | | | | |
| | | 44,59 g / 1000 ml | | | | | | | | | |
| Ausgleich | Medium SRM-Fe | Kontinuierliche Zugabe bis nahe neutral | | | | | | | | | |
| Lagerung | | Lagerung unter N ₂ - oder H ₂ -Atmosphäre, RT | | | | | | | | | |

Tabelle 2.8:Vorgehen bei Herstellung der metallsulfidischen Suspensionen, Fällungsreihe 2 (FR₂)

| | | | NiS | | [NiFe]-S | | FeS | | [FeNi]-S | | |
|-----------|--|--|---|---------|---|--------|---|---------|---|---------|--|
| Vorlage | 500 mM Me ²⁺ -Lösung (100 ml) | | NiSO ₄ · x 6 H ₂ O | 13,14 g | NiSO ₄ · x 6 H ₂ O | 9,86 g | NiSO ₄ · x 6 H ₂ O | / | NiSO ₄ · x 6 H ₂ O | 3,29 g | |
| | (Verdünnung nach Fällung auf 200 mM (250 ml)) | | FeSO ₄ · x 6 H ₂ O | / | FeSO ₄ · x 6 H ₂ O | 3,48 g | FeSO ₄ · x 6 H ₂ O | 13,90 g | FeSO ₄ · x 6 H ₂ O | 10,43 g | |
| Fällung | 500 mM S ²⁻ -Lösung (Kontinuierliche Dosierung von 150 ml / Ansatz) | | Na ₂ S · 7-9 H ₂ O | | | | | | | | |
| | | | 111,48 g | | | | | | | | |
| Ausgleich | Medium SRM-Fe | | Kontinuierliche Zugabe bis nahe neutral | | | | | | | | |
| Lagerung | | | Lagerung unter N ₂ - oder H ₂ -Atmosphäre, RT | | | | | | | | |

2.3 Vorkultivierung

Die Kultivierung der Mischkulturen vor Einsatz in den technischen Versuchen erfolgte in randvoll gefüllten DURAN®-Flaschen oder in Transfusionsflaschen unter N₂-Atmosphäre mit Medium SRM bzw. SRM-Fe. Die Transfusionsflaschen wurden mit Chlorbutylgummistopfen verschlossen. Als lösliche Substrate wurden unterschiedliche organische VFA, Lactat, Methanol oder Glucose in unterschiedlichen Konzentrationen

¹⁴ Eisen gepulvert (Korngröße ca. 150 µm)

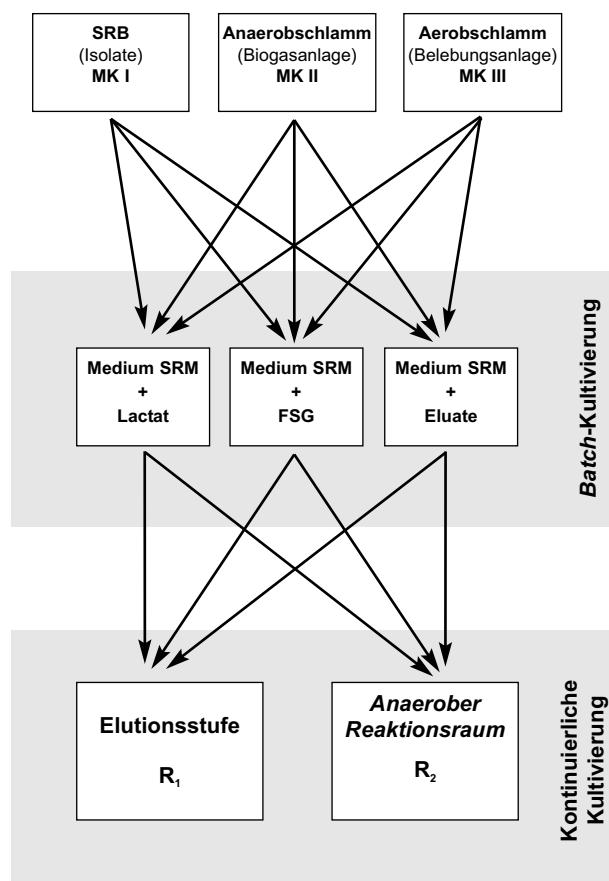
und Verhältnissen eingesetzt. Bei Vorkultivierung mit FSG wurde die entsprechende Masse des getrockneten FSG eingewogen und dem Medium beigegeben. Zur Durchführung von *Batch*- oder *Fed-Batch*-Untersuchungen wurden Proben aus den kontinuierlichen Versuchen entnommen und i.d.R im Verhältnis von 1:10 direkt zur Beimpfung der neuen Ansätze eingesetzt. In einzelnen Versuchen, die hohe Biomassekonzentration zur Voraussetzung hatten, wurden Kulturen aus den technischen Versuchen zwischeninkubiert auf SRM / SRM-Fe und die gewachsene Kultur in 85 ml NALGENE® Oak Ridge-Zentrifugenbechern abzentrifugiert (10000g, 10 min) und in entsprechenden Volumina Medium SRM / SRM-Fe resuspendiert.

Selektion der Mischkultur

Im Verlauf der Arbeiten wurde darauf gezielt, eine Mischkultur zu etablieren, die prinzipiell im Rahmen eines technischen Prozesses die Fähigkeit hat, lösliche organische Verbindungen aus einem FSG freizusetzen und die Umsetzung dieser Verbindungen effektiv an die mikrobielle Reduktion von gelöstem Sulfat zu koppeln. Aus diesem Grund wurde anfänglich eine möglichst komplexe Mischkultur eingesetzt. Mit dem Anspruch, dass die Kultur auch unter unsterilen Bedingungen im Freiland bzw. im technischen Prozess bezüglich der metabolischen Prozesse stabil und unanfällig gegen spätere Kontaminationen sein muss, sollten im Verlauf der (kontinuierlichen) Untersuchungen nach und nach die gewünschten Fähigkeiten selektiert werden. Abbildung 2.1 gibt einen Überblick über die experimentelle Vorgehensweise zur Selektion der metabolischen Fähigkeiten, die zunächst eine Phase der *Batch*-Kultivierung der einzelnen Mischkulturen mit unterschiedlichen Substraten und dann im Anschluss eine Phase der kontinuierlichen Kultivierung im zweistufigen Prozess über einen Zeitraum von mehreren Monaten einschloss.

Abbildung 2.1:

Selektion und Optimierung der Mischkultur, Prinzip der experimentellen Vorgehensweise; die Mischkulturen wurden separat auf den einzelnen Medien vorkultiviert und die benötigten Stoffwechsel-eigenschaften im kontinuierlichen Prozess selektiert



2.4 Auswahl und Erprobung der *Festen Substanzgemische* (FSG)

2.4.1 Eluierbarkeit organischer Verbindungen

Um den Gehalt an eluierbarem Kohlenstoff der Neben- und Abprodukte zu ermitteln und Aussagen über den Einfluss verschiedener Schwermetallkonzentrationen und variierender pH-Werte machen zu können, wurde ein Eluierungsverfahren auf der Basis des Schütteltestes nach DIN 38414-S4 und des pH_{stat.}-Versuches erstellt [Paschke et al. 1996]. Die pH-Wert-Regelung erfolgte durch ein Multititrationssystem (Wittenfeld und Cornelius GbR, Bochum). Dieses System wurde ursprünglich für die Durchführung von pH_{stat.}-Versuchen entwickelt. Die kontinuierliche Durchmischung erfolgte mit Hilfe eines Horizontalschüttlers (GFL mbH, Burgwedel).

Bei allen Versuchen wurde zuerst das FSG in 500 ml Glasgefäß eingewogen. Dann erfolgte die Zugabe des jeweiligen Elutionsmittels in einem Medium-/ Feststoffverhältnis von 10 ml/g. Die Ansätze wurden bei 175 U/min geschüttelt. Eluiert wurde bei den pH-Werten 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 und 9. Pro Versuch wurde für jedes Produkt ein Ansatz mit 35 g TS FSG und 350 ml Medium SRM hergestellt. Die Versuchsdauer betrug jeweils 24 Stunden. Die Probeentnahme erfolgte nach 1,0, 1,5, 2,5 und 24,0 Stunden. Für pH 2 und pH 3 wurde 0,5M, für pH 4 und pH 5 0,1M H₂SO₄ als Titrationslösung verwendet. Für die pH-Werte 6 bis 9 wurde 1M NaOH eingesetzt.

Die Versuche wurden bei Raumtemperatur durchgeführt. Es wurden jeweils 5 ml Probe entnommen. Die einzelnen Proben wurden zur Bestimmung der DOC-Konzentration eingesetzt (vgl. Abschnitt 2.9).

2.4.2 Verhalten gegenüber Schwermetallionen

Ziel der Untersuchung war die Beurteilung der Sorptionsfähigkeit der festen Substanzgemische gegenüber unterschiedlichen Schwermetallionen aus komplexen wässrigen Lösungen. Die Untersuchung umfaßte zwei Versuchsreihen. In der ersten Versuchsreihe wurde das Medium SRM mit einer geringen Metallsalzkonzentration (SM I, vgl. Abschnitt 2.2) als Elutionsmittel eingesetzt, im zweiten Ansatz Medium SRM mit einer erhöhten Metallsalzkonzentration (SM II, vgl. Abschnitt 2.2). Apparatur und Aufbau entsprachen prinzipiell der Beschreibung in Abschnitt 2.4.1.

Die Versuchsreihen bestanden jeweils aus zwei Versuchen. Der erste Versuch umfaßte die pH-Werte 2, 3 und 4, der zweite Versuch die pH-Werte 5, 6 und 7. Es wurden jeweils 40 g TS FSG und 400 ml Elutionsmittel verwendet. Begonnen wurde mit der Elution bei pH 2. Die Titration erfolgte mit 0,5 M H₂SO₄. Nach 2,5 Stunden wurden 25 ml Probe entnommen und mit der Elution bei pH 3 fortgefahren (Titration mit 1N NaOH). Die Probenahme erfolgte wieder nach 2,5 h. Der Versuch wurde mit der Elution bei pH 4 beendet, wobei die letzte Probenahme wieder nach 2,5 Stunden

Elution stattfand. Der zweite Versuch wurde mit der Elution bei pH 5 begonnen. Zur pH-Wert-Einstellung diente 1 M NaOH. Auch hier wurde nach 2,5 Stunden von jedem Ansatz 25 ml Probe entnommen und die Eluierung beim nächst höheren pH-Wert fortgesetzt. Die Proben dienten der Bestimmung der DOC-Konzentration und des gesamten, in dem Elutionsmittel enthaltenen Metallspektrums (vgl. Abschnitt 2.9).

2.4.3 Sulfatreduktion mit den Eluaten der *Festen Substanzgemische* (FSG)

Die Versuche wurden mit der sulfatreduzierenden Mischkultur (MK I) und der Kultur aus der Biogasanlage (MK II) in randvoll gefüllten 100 ml DURAN®-Flaschen durchgeführt. Als Medien wurden die Eluate der FSG verwendet, die entsprechend Abschnitt 2.4.1 bei einer Elutionszeit von 24 h gewonnen wurden. Beimpfung und Beprobung der einzelnen Ansätze erfolgten in einer Anaerobenwerkbank Bactron AB1100. Die Ansätze wurden bei Raumtemperatur inkubiert. Die Ansätze wurden in regelmäßigen Abständen beprobt. Es wurden aus den Proben jeweils die Konzentrationen an gelöstem Sulfat und DOC bestimmt (vgl. Abschnitt 2.9).

2.4.4 Sulfatreduktion in Anwesenheit der *Festen Substanzgemische* (FSG)

Die Versuche wurden mit der sulfatreduzierenden Mischkultur MK I in 500 ml Transfusionsflaschen unter N₂-Atmosphäre durchgeführt. Die Transfusionsflaschen wurden mit Chlorbutylgummistopfen verschlossen. Es wurden jeweils 10 g des getrockneten und zerkleinerten FSG in 250 ml Medium SRM verwendet. Beimpfung und Beprobung der einzelnen Ansätze erfolgten in einer Anaerobenwerkbank Bactron AB1100. Die Ansätze wurden bei Raumtemperatur inkubiert. Die Ansätze wurden in regelmäßigen Abständen beprobt. Es wurden aus den Proben jeweils die Konzentrationen an gelöstem Sulfat und DOC bestimmt (vgl. Abschnitt 2.9).

2.5 Behandlung der Wässer im einstufigen Reaktorsystem

Für den kontinuierlichen Säulenversuch (einstufiges Reaktorsystem) wurden als FSG Biertreber, Bleicherde und Silage verwendet. Es wurden drei Glassäulen mit einer Gesamthöhe von je 40 cm verwendet und parallel als Festbettreaktoren mit den unterschiedlichen *Festen Substanzgemischen* eingesetzt (Abbildung 2.2). In Abbildung 2.3 ist der Aufbau einer solchen Glassäule dargestellt. Eine einzelne Säule bestand aus einem 25 cm langen zylinderförmigen Mittelteil mit einem Innendurchmesser von 5 cm und einem seitlich angebrachten Einfüllstutzen, der zur Installation der pH-Elektrode genutzt wurde. Ober- und unterhalb dieses Mittelteils waren halbrunde Aufsätze mit unterschiedlich großen Anschlüssen angebracht. Diese wurden für Zu- und Ablauf, pH-Elektrode und Probenahme genutzt.

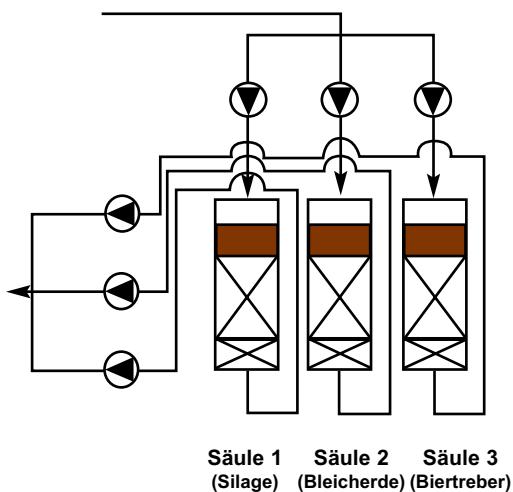


Abbildung 2.2:
Säulenversuch, einstufiges Reaktorsystem,
Verfahrensfließbild

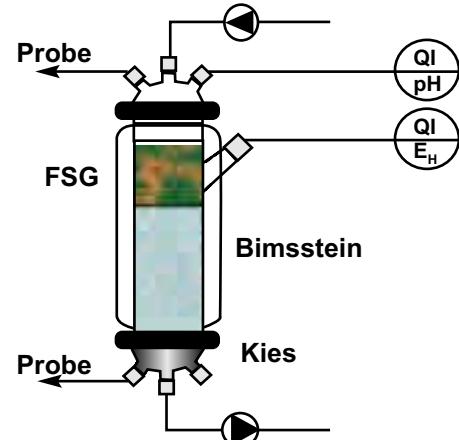


Abbildung 2.3:
Säulenversuch, einstufiges Reaktorsystem,
Aufbau der Säule

Zur kontinuierlichen pH- und E_{AgCl} -Messung wurde ein mikrokontrollergesteuertes Mehrkomponentenmessgerät KM200 (Sensortechnik Meinsberg GmbH, Ziegra Knobelsdorf) verwendet. Zu- und Ablaufregelung erfolgte über eine Schlauchpumpe (Watson Marlow, Rommerskirchen).

Der untere Teil der Säule wurde bis zu einem Volumen von ca. 300 ml mit grobem Kies, (Durchmesser 0,3 -1,0 cm) gefüllt, um einen freien Ablauf des Mediums zu gewährleisten. Darüber folgte eine Schicht aus Bimsstein (Korngröße 0,8 - 3,0 mm) bis zu einem Volumen von 600 ml. Je Säule wurden auf das Bimssteinbett 60 g TS FSG aufgegeben und das Reaktorvolumen mit Medium SRM (600 ml) befüllt. Die einzelnen Säulen wurden mit Mischkultur MK I beimpft und es wurden jeweils 2,5 ml 50%ige Natriumlactatlösung zugegeben. Anschließend wurden die so befüllten Säulen unter kontinuierlicher N_2 -Begasung sechs Tage im *Batch*-Modus kultiviert. Weitere vier Tage wurden die Säulen teilweise kontinuierlich betrieben. Danach erfolgte eine kontinuierliche Prozessführung mit einer Zu- und Ablaufrate von 3,25 ml/h. Drei Tage nach Beginn des kontinuierlichen Betriebes wurde nochmals eine Beimpfung der Säulen durchgeführt. Es wurden 20 ml MK I und 5 ml MK II in den Bereich des FSG im oberen Teil der Säule injiziert. Der Zu- und Ablauf betrug bis zum 25. Tag 3,25 ml/h, wurde danach auf 6,50 ml/h erhöht und nach weiteren 13 Tagen auf 4,88 ml/h eingestellt. Die Versuche fanden über den gesamten Zeitraum bei Raumtemperatur statt und die wässrigen Phasen wurden regelmäßig beprobt. Es wurden aus den Proben jeweils die Konzentrationen an gelöstem Sulfat, DOC, Protein und, in Einzelfällen, VFA bestimmt (vgl. Abschnitt 2.9).

2.6 Behandlung der Wässer im zweistufigen Reaktorsystem

Es wurden verschiedene Fermentersysteme (B.Braun Biotech, Melsungen) eingesetzt. Hierzu zählten ein Fermentersystem des Typs BIOSTAT Q mit einem Arbeitsvolumen von 350 ml (4fach Reihenfermenter), ein System des Typs BIOSTAT Q mit einem Arbeitsvolumen von 1000 ml (4fach Reihenfermenter) und ein Reaktorsystem des Typs BIOSTAT MD mit einem Arbeitsvolumen von 2000 ml. Die doppelwandigen Kulturgefäße bestanden aus Borosilikatglas und waren autoklavierbar. Alle Fermentersysteme waren ausgerüstet mit einem digitalen Instrumentierungssystem DCU. Die Kulturgefäße waren bestückt mit pH- und Temperatursonde (PT-100). Die Gefäße mit 1000 ml und 2000 ml Arbeitsvolumen waren zusätzlich ausgerüstet mit E_{AgCl} -Sonden. Die Elektrodensysteme zur pH- und E_{AgCl} -Messung waren in allen Fällen Einstabmessketten (Mettler-Toledo, Gießen) mit Silberionensperre, so dass eine Verblockung des Diaphragmas durch sulfidische Ablagerungen in weiten Bereichen verhindert werden konnte. Optional wurde in einigen Fällen der Sauerstoffpartialdruck erfasst. Die Daten pH-Wert, E_{AgCl} -Wert, pO_2 -Wert, Temperatur, Rührerdrehzahl und die Werte der Volumina an dosierten Lösungen zur pH- bzw. E-Regelung wurden zentral erfasst. Die Regelung des pH-Wertes wurde über einen PID-Algorithmus realisiert, der im DCU-System programmiert wurde. Alle Gefäße wurden im Versuchsverlauf entweder über ein Begasungsrohr (Flüssigphase) oder einen speziellen Stutzen (Gasphase) mit N_2 (Reinheit 5.0) begast. Das Abgas wurde durch einen Abluftkühler in eine mit 1N NaOH gefüllte Waschflasche geleitet. Es wurde zusätzlich zur Begasung eine minimale Durchmischung der Flüssigphasen über unterschiedliche Rührsysteme (Arbeitsvolumen 350 ml: Magnetrührer; Arbeitsvolumina 1000 ml und 2000 ml: Blattrührer) vorgenommen. Über verschiedene Zugabestutzen wurden Medium und Säure / Lauge zur pH-Regelung dosiert. Die Probenahme erfolgte über Membran-Anstechstutzen mittels Edelstahlkanülen. Die Fermenter wurden vor Versuchsbeginn in befülltem Zustand autoklaviert (121°C, 20 min). Für die oben angeführten Betriebsbedingungen sind in Tabelle 2.9 Standardwerte angeführt. Die Rührreaktoren wurden in den zweistufigen Versuchen jeweils als Anaerobreaktor R_2 eingesetzt (vgl. Abschnitt 3.1).

Tabelle 2.9:

Standardbedingungen Fermenter (R_2)

| Temperatur | Rührer | pH | pH-Regelung | Begasung |
|------------|----------------|-----|--------------------------------|-----------------------|
| 25°C | 50 - 100 U/min | 7,0 | 0,1-1,0N HCl, 0,1-1,0N NaOH | 0,1 - 0,2 l/min N_2 |

Als Elutionsstufe R_1 wurde eine Duran®-Flasche mit einer bestimmten Masse des getrockneten FSG (Silage) gefüllt und dieses mit einer Kiesschicht überdeckt, um einen Auftrieb des FSG zu vermeiden. Die Flaschen wurden mit Silikonsepten verschlossen. Die Dosierung des Zulaufs zu R_1 , i.d.R. Medium SRM, erfolgte über eine Edelstahlkanüle in die Substratzone, der Ablauf, somit der Zulauf für R_2 , wurde mit einer Edelstahlkanüle aus dem Überstand entnommen, so dass nur das Eluat des FSG in R_2 zur Verfügung stand. Zum Transport der flüssigen Phase wurden PharMed®-Schläuche eingesetzt. Dieses Schlauchmaterial stellte sich aufgrund seiner Eigenschaften hinsichtlich Autoklavierbarkeit und hoher Gasdichtigkeit als am geeigneten heraus. Die Umwälzung der wässrigen Phasen erfolgte mittels einer Schlauchpumpe (Watson Marlow, Rommerskirchen). Ein Verfahrensfließbild zur grundsätzlichen Kombination von R_1 und R_2 ist in Abbildung 2.4 dargestellt.

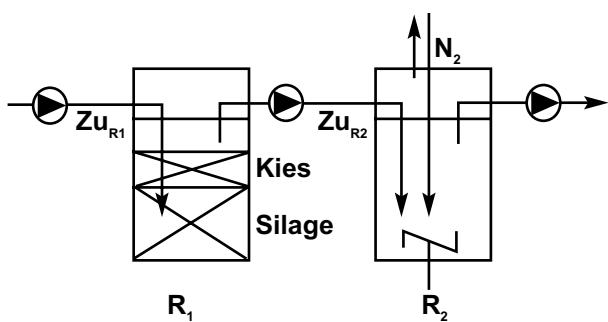


Abbildung 2.4:
Zweistufiges Reaktorsystem,
Verfahrensfließbild Standard

Die beiden Reaktionsstufen wurden jeweils separat beimpft, wobei für jeden Versuch die jeweils geeigneten Kulturen aus den vorhergehenden Versuchen gewählt wurden. In den Versuchen, in denen die Substratvorlage, d.h. das System R_1 ausgetauscht wurde, erfolgte die Beimpfung des frischen FSG mit der Kultur aus der verbrauchten Stufe i.d.R. in einer Verdünnung mit Medium SRM im Verhältnis 1:2 bis 1:3. Die Probenahme erfolgte regelmäßig in R_1 aus dem Überstand, in R_2 aus dem kurzzeitig (10 Sekunden) volldurchmischten Fermenter. Die Proben wurde unmittelbar nach Entnahme bei -20°C eingefroren. Proben zur Metallanalytik wurden vor dem Einfrieren zentrifugiert (10000g, 5 min), um alle anorganischen metallhaltigen Sedimente abzuscheiden. Nur der Überstand wurde nach Ansäuerung mit HNO_3 bzw. H_2SO_4 konserviert. Die wässrigen Proben wurden zur Bestimmung der Konzentrationen an gelöstem Sulfat, DOC, Protein und einzelner VFA und einzelner gelöster Schwermetalle verwendet (vgl. Abschnitt 2.9).

Zur Optimierung von R_1 wurden unterschiedliche technische Eingriffsmöglichkeiten untersucht, die im Rahmen einer verfahrenstechnischen Umsetzung als realisierbar eingestuft werden konnten. Aufgrund der Modifikationen der Versuchsaufbauten sind hier Versuchsreihen zur Untersuchung der Elutionsart, zum Einfluss von pH-Regelung und zum Einfluss Begasung / Stripping mit N_2 oder Druckluft zu nennen. Die Abbildungen 2.5 bis 2.7 geben jeweils die Verfahrensfließbilder wieder.

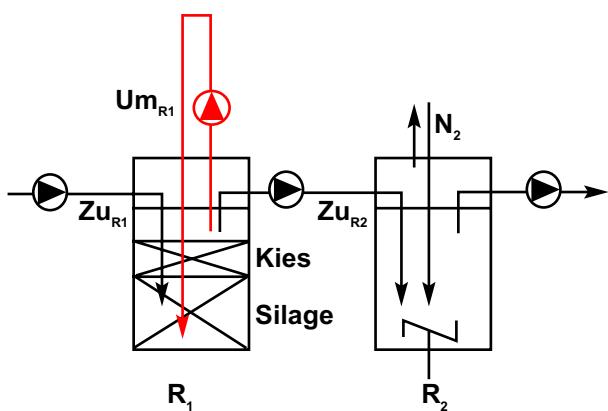


Abbildung 2.5:
Zweistufiges Reaktorsystem mit
Veränderung der Elutionsart,
Verfahrensfließbild

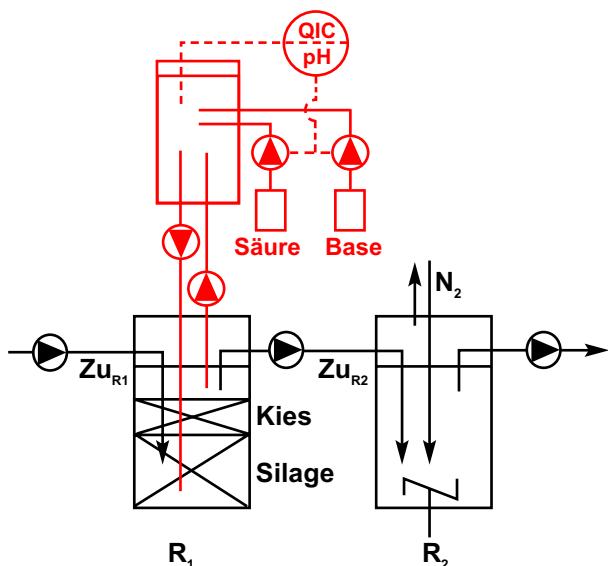


Abbildung 2.6:
Zweistufiges Reaktorsystem mit
pH-Regelung im Umlauf,
Verfahrensfließbild

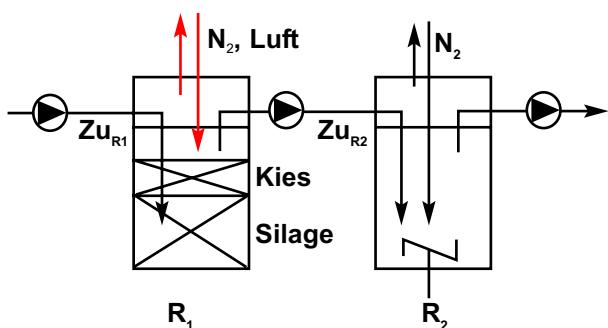


Abbildung 2.7:
Zweistufiges Reaktorsystem mit
Begasung / Strippen,
Verfahrensfließbild

Zur Untersuchung des Einflusses der Elutionsart wurde neben Versuchen zur kontinuierlichen Elution und kontinuierlichen Elution mit Umlauf (Abbildungen 2.4 und 2.5) in R₁ auch ein Versuch mit *Batch*-Elution durchgeführt. Hier wurde für jeweils einen Zeitraum von ca. drei Tagen das beimpfte FSG mit frischem Medium in Kontakt gebracht, dieses dann ausgetauscht gegen frisches Medium und das Eluat kontinuierlich in R₂ zugeführt.

Zur Untersuchung des Einflusses des pH-Wertes in R₁ wurde der pH-Wert auf pH 4,2, 4,8 und 5,4 geregelt. Die pH-Regelung von R₁ erfolgte im Umlauf (Abbildung 2.6). Medium wurde aus dem Überstand von R₁ kontinuierlich in eine separate Duran®-Flasche (100 ml, gerührt) geleitet. Dort erfolgte die Regelung mit 0,1N HCl / 0,1N NaOH, bzw. in einem Fall mit 1N Milchsäure. Die Verweilzeit im separaten Gefäß betrug ca. 34 Minuten.

Zur Untersuchung des Einflusses der Begasung der Elutionsstufe erfolgte eine Begasung über Kanülen entweder des Gasraumes oder des Überstandes der flüssigen Phase (Abbildung 2.7). Die angesetzten Gasströme lagen im Bereich von 0,1 l/min bis 0,2 l/min (Stickstoff / Druckluft).

Zur Untersuchung des Einflusses von erhöhten Schwermetallkonzentrationen auf R₁ und R₂ wurde zum Medium SRM nach pH-Einstellung im Zulauf zu R₁ Lösung SM III zugegeben. Die Konzentrationen an gelösten Schwermetallen wurden im Ablauf von R₂ bestimmt.

Für die oben angeführten Betriebsbedingungen sind in Tabelle 2.10 Standardwerte angeführt. Die genauen Versuchsbedingungen sind im Rahmen der jeweiligen Ergebnisdarstellung angeführt.

Tabelle 2.10:

Standardbedingungen zweistufiges Reaktorsystem

| Temperatur | TS _{Silage} / V _{L,R1} | HRT _{R1} | HRT _{R2} |
|------------|--|-------------------|-------------------|
| RT | 54,0 - 83,0 mg/ml | 34,4 - 137,3 h | 38,4 - 80,8 h |

2.7 *Batch*-Versuche zum Substratumsatz - Identifizierung der relevanten Elektronendonoren

Die Kultivierung der Mischkulturen erfolgte in randvoll gefüllten DURAN®-Flaschen oder in Transfusionsflaschen unter N₂-Atmosphäre. Die Transfusionsflaschen wurden mit Chlorbutylgummistopfen verschlossen.

Untersuchungen mit der Mischkultur wurden mit der sich im Verlauf der Versuche kontinuierlich verändernden Kultur durchgeführt. Aus den kontinuierlichen Versuchen wur-

den Proben aus den entsprechenden Prozessstufen entnommen und soweit möglich ohne weitere Aufbereitung bzw. mit Zwischeninkubation zur Biomassenanreicherung auf den entsprechenden Medien angesetzt. Der weitgehende Verzicht auf Zwischenkultivierung lag darin begründet, dass es sich bei den untersuchten Kulturen um komplexe Mischkulturen in Verbindung mit anorganischen Matrices handelte. Es war zu erwarten, dass jede verfahrensferne Kultivierung eine Veränderung des mikrobiologischen Systems bewirkte, das Gegenstand der Untersuchung war. Es wurden für die Ansätze immer alle zum entsprechenden Zeitpunkt vorhandenen Kulturen aus laufenden kontinuierlichen Versuchen entnommen und in Parallelansätzen in den *Batch*-Versuchen inkubiert. Die Verdünnung der Kulturen im *Batch*-Ansatz orientierte sich an der Biomasse- bzw. der Proteinkonzentration. In der Regel wurde eine Verdünnung von 1:20 bis 1:10 gewählt. Die Kultivierung erfolgte auf den Medien SRM bzw. SRM-Fe unter Zugabe von unterschiedlichen Substraten als Kohlenstoff- und Energiequelle. Die Inkubation erfolgte bei Raumtemperatur oder bei 30°C. Beimpfung und Inkubation mit Kulturen aus Ansätzen mit geringen Anteilen sulfidischen Sedimentes erfolgten in der Anaerobenwerkbank Bactron AB1100. Die Substratdosierung und Details zum Versuchsansatz sind im Rahmen der jeweiligen Ergebnisse dargestellt. Die Versuche wurden regelmäßig beprobt. Es wurden aus den Proben jeweils die Konzentrationen an gelöstem Sulfat, DOC, Protein und VFA bestimmt (vgl. Abschnitt 2.9).

2.8 Einfluss von Schwermetallsulfiden auf die technisch relevanten anaeroben Prozesse

2.8.1 *Batch*-Kultivierung mit organischen Säuren

Die Abhängigkeit der metabolischen Aktivität einer anaeroben Mischkultur, die in einem kontinuierlichen technischen Prozess mit einem sich verändernden Spektrum von VFA kultiviert worden war, von der Anwesenheit sulfidischer Präzipitate wurde in zwei unterschiedlichen Versuchsaufbauten untersucht.

Kultivierung in Duran®-Flaschen

Im Falle der *Batch*-Kultivierung mit VFA wurden zunächst sieben Proben (je 30 ml) aus einem kontinuierlichen Versuch (Reaktionsstufe R₂) entnommen und auf Medium SRM-Fe (Substrate jeweils Lactat 40 mM, VFA 10 mM) inkubiert. Diese Zwischeninkubation erfolgte jeweils in einem Arbeitsvolumen von 300 ml in der Verdünnung 1:10 bei Raumtemperatur für sieben Tage. Die gewachsenen Vorkulturen wurden anschließend zentrifugiert (10000 g, 5 min) und das Pellet in 30 ml Medium SRM-Fe resuspendiert.

Im anschließenden Versuch wurden jeweils 3 ml der Biomassesuspension zur Beimpfung eingesetzt. Die Inkubation erfolgte in Duran®-Flaschen mit einem Arbeits-

volumen von 30 ml mit Medium SRM-Fe, pH 7. Als Substrat wurden jeweils entsprechend VFA in einer Konzentration von 10 mM zugegeben. Die Inkubation und jede Probenahme erfolgte in der Anaerobbox unter einer N_2 -/ H_2 -Atmosphäre (95/5 % v/v). Für jede einzelne VFA wurden Versuche unter Zugabe von FeS bzw. NiS angesetzt, wobei die Schlammsuspension entweder direkt zugegeben oder durch einen Dialyseschlauch von der Biomasse getrennt wurde (vgl. Abbildung 2.8). Die verwendeten Dialyseschläuche wurden zunächst auf eine Länge von ungefähr 7 cm zugeschnitten, einseitig mit Kabelbindern verschlossen und anschließend autoklaviert (121°C, 20 min). Bei Versuchsbeginn wurden die Dialyseschläuche mit der geschlossenen Seite in zunächst vorgelegtes Medium plaziert und anschließend mit dem entsprechenden Zusatz an Metallsulfidsuspension gefüllt (vgl. Abbildung 2.8). Anschließend erfolgte die Beimpfung. Beim vorsichtigen Verschrauben der Flaschen wurde die geöffnete Seite des Dialyseschlauchs zwischen Schraubverschluss und Gewinde plaziert und der Schlauch somit separat verschlossen. Die sulfidischen Zusätze wurden zuvor entsprechend der oben beschriebenen Prozedur vorbereitet und nach Volldurchmischung der Füllungsbehälter ohne weitere Aufbereitung in den Versuchen eingesetzt. Die Versuche fanden über den gesamten Zeitraum bei 30°C statt und die wässrigen Phasen wurden regelmäßig beprobt. Es wurden aus den Proben jeweils die Konzentrationen an gelöstem Sulfat, DOC, Protein und VFA bestimmt (vgl. Abschnitt 2.9).

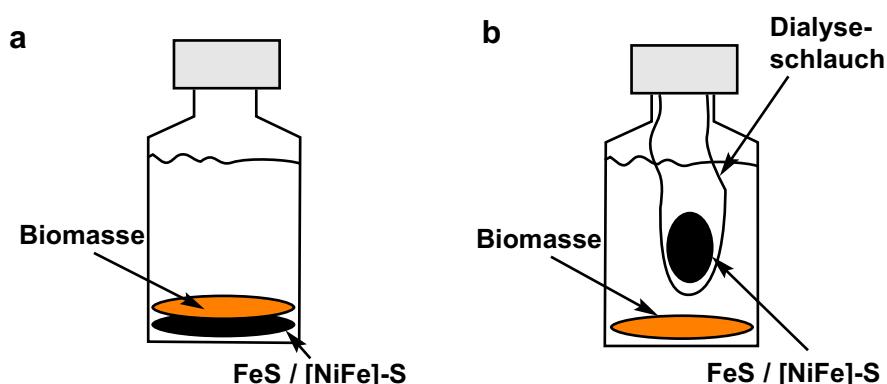


Abbildung 2.8:

Batch-Kultivierung mit organischen Säuren in Anwesenheit von metallsulfidischen Schlämmen, Versuchsaufbau

- Kultivierung bei Kontakt von Biomasse und Schlamm
- Kultivierung bei Trennung von Biomasse und Schlamm durch Dialyseschlauch

Kultivierung in Segmentierten Reaktoren

Die Untersuchungen in diesem Rahmen schlossen sich inhaltlich unmittelbar an die oben genannten Versuche an. Hierzu wurden spezielle Reaktionsgefäße konzipiert und angefertigt, die als segmentierte Reaktoren betrieben werden konnten. Das

Konstruktionsprinzip ist in Abbildung 2.9 wiedergegeben. Die Reaktionsgefäße wurden aus DURAN®-Glas gefertigt. Die beiden GL25-Stutzen wurden zunächst mit Chlorbutylgummistopfen abgedichtet und mit Gewindekappen verschraubt. Der Stopfen am Kopf des Reaktionsgefäßes wurde durchbohrt, so dass ein Glasrohr (ID 10 mm) dicht schließend eingeführt werden konnte. Am unteren Ende des Glasrohrs wurde ein ca. 10 cm langes Stück Dialyseschlauch mit Hilfe von Kabelbindern befestigt. Das untere Ende des Dialyseschlauchs wurde mehrmals gefaltet und wiederum mit Kabelbindern verschlossen. Die Sterilisation der Gefäße erfolgte mit Rohr und Dialyseschlauch. Alle in diesem Versuch untersuchten Ansätze sind in Tabelle 2.11 dargestellt.

Tabelle 2.11:

Batch-Versuch in Segmentierten Reaktoren, Schlammzugabe

| Ansatz | Schlammzugabe | Abb. |
|--------------------------------------|--|-------|
| Blindansatz | / | |
| [NiFe]-S | Schlamm in Dialyseschlauch | 2.9 a |
| [NiFe]-S | Schlamm in Dialyseschlauch + äußerem Bereich | 2.9 b |
| [NiFe]-S _(+H₂) | Schlamm in Dialyseschlauch | 2.9 a |
| [NiFe]-S _(+H₂) | Schlamm in Dialyseschlauch + äußerem Bereich | 2.9 b |

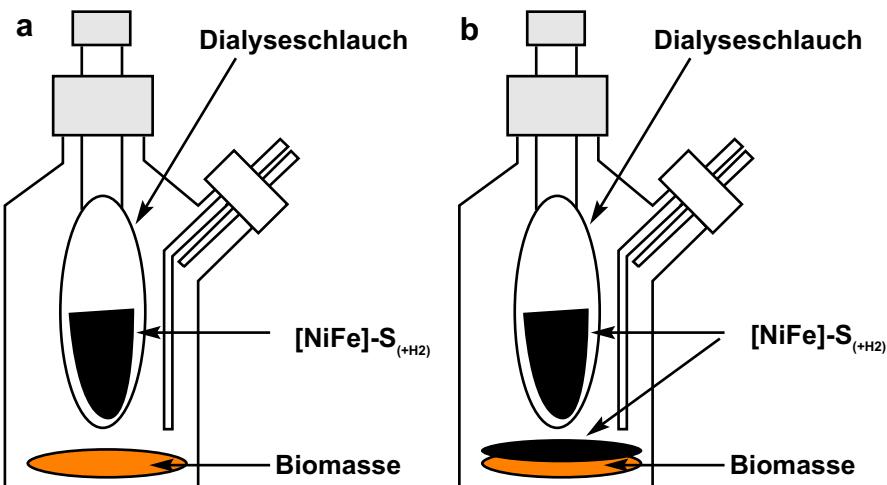


Abbildung 2.9:

Batch-Kultivierung mit organischen Säuren in Anwesenheit von metallsulfidischen Schlämmen in Segmentierten Reaktoren, Versuchsaufbau

- a) Kultivierung bei Trennung von Biomasse und Schlamm durch Dialyseschlauch
- b) Kultivierung bei Kontakt von Biomasse und Schlamm

Zur Beimpfung wurden zunächst 250 ml Medium SRM-Fe mit dem *Synthetischem Eluat* zugegeben. Anschließend wurde in den entsprechenden Ansätzen über das Rohr bzw. über den seitlichen Stutzen 10 ml sulfidischer Schlamm zugegeben. Danach erfolgte die Beimpfung mit einer Mischkultur aus einem kontinuierlichen zweistufigen Versuch (R₂), wobei die Kultur vor Beimpfung nicht weiter aufbereitet wurde. Die Beimpfung erfolgte in allen Fällen über den seitlichen Stutzen außerhalb des Dialyseeschlauchs in der Anaerobenwerkbank Bactron AB 1100 unter einer N₂/H₂-Atmosphäre (95/5% v/v). Die Inkubation erfolgte bei Raumtemperatur für einen Zeitraum von 35 Tagen. Vor jeder Probenahme wurde über eine Kanüle ein N₂-Überdruck in den einzelnen Gefäßen geschaffen, um zu verhindern, dass bei Probenahme Luft in die Ansätze gezogen wird. Zur Probenahme wurden die einzelnen Ansätze vollständig durchmischt. Die Probenahme erfolgte jeweils nur aus dem Reaktionsraum außerhalb des Dialyseeschlauchs. Nach der Probenahme wurde der Überdruck wieder ausgeglichen. Im gesamten Versuchszeitraum wurde die Gasatmosphäre jedoch zu keinem Zeitpunkt vollständig ausgetauscht. Die Versuche wurden regelmäßig beprobt. Es wurden aus den Proben jeweils die Konzentrationen an gelöstem Sulfat, DOC, Protein und VFA bestimmt (vgl. Abschnitt 2.9).

2.8.2 Sorptionsversuche mit H₂

Die Sorptionsexperimente wurden in 100 ml Serum-Flaschen durchgeführt. Es wurde in jedes Gefäß 20 ml der jeweiligen Schlammsuspension (FeS, NiS, [NiFe]-S) gegeben. Als Blindversuch wurde ein Gefäß mit 20 ml bidest. H₂O mitgeführt. In jedes Gefäß wurde HgCl₂ bis zu einer Endkonzentration von 200 mg/l gegeben, um in den Experimenten mikrobielle Aktivität zu unterdrücken. Die Gefäße wurden jeweils mit einem Chlorbutylgummistopfen dicht verschlossen. Alle genannten Arbeiten wurden in einer Anaerobenwerkbank BactronTM AB1100 unter einer N₂/H₂-Atmosphäre (95/5% v/v) durchgeführt.

Nach 14 Tagen wurden die Ansätze für acht Stunden kontinuierlich mit H₂ begast und im Anschluss daran 48 Stunden unter einer H₂-Atmosphäre aufbewahrt. Nach dieser Zeit wurde der Gasraum in den Gefäßen über Kanülen für 60 Minuten kontinuierlich mit N₂ gespült. Danach wurden zum erneuten Ausgleich der Gasphasenzusammensetzung die Ansätze 30 Minuten ungestört belassen und dann die Wasserstoffkonzentration (c_{H₂,g}) im Gasraum der jeweiligen Ansätze bestimmt. Eine Überprüfung erfolgte nach 24 Stunden. Die Probenahme erfolgte mittels einer gasdichten Spritze in Verbindung mit einer dünnen Kanüle aus der Gasphase der jeweiligen Ansätze. Nach Entnahme wurde die Probe direkt in den Process Gas Analyser ta3000R (TRACE Analytical, Menlo Park, Ca, USA) injiziert.

2.8.3 Fed-Batch-Kultivierung mit H₂ / Lactat / Methanol

Die vergleichende Untersuchung der Umsetzung der Substrate H₂, Lactat und Methanol in Anwesenheit der Schwermetallsulfide FeS bzw. NiS wurde in zwei Versuchsreihen durchgeführt, die sich hinsichtlich der Substratkonzentrationen unterschieden. Zur Beimpfung wurde Mischkultur MK I aus einem kontinuierlichen Fermentationsversuch zur mikrobiellen Sulfatreduktion mit Lactat als Kohlenstoff- und Energiequelle eingesetzt.

Die Versuche wurden angesetzt, indem zunächst in jedem von sechs Ansätzen in der Anaerobbox unter einer N₂-/ H₂-Atmosphäre (95/5 % v/v) 90 ml Medium SRM vorgelegt wurden. Für jeden Ansatz wurden 100 ml der gewachsenen Kultur zentrifugiert (10000 g, 10 min) und das Pellet in je 10 ml Medium SRM resuspendiert. Diese 10 ml wurden den Ansätzen jeweils zugegeben. Im unmittelbaren Anschluß daran wurden in jeden Ansatz die entsprechende FeS- bzw. NiS-Suspension gegeben (siehe Tabelle 2.12). Die Ansätze wurden mit Chlorbutylgummistopfen dicht verschlossen.

Tabelle 2.12:
Fed-Batch-Kultivierung, Schlammdosierung

| Schlammdosierung | | |
|--------------------|-----------|-----------|
| H ₂ NiS | 25 ml NiS | |
| H ₂ FeS | | 25 ml FeS |
| Lactat NiS | 25 ml NiS | |
| Lactat FeS | | 25 ml FeS |
| Methanol NiS | 25 ml Nis | |
| Methanol FeS | | 25 ml FeS |

Zur Fed-Batch-Kultivierung wurden die Stopfen mit je einer dünnen Kanüle, die bis in die Flüssigphase reichte, durchstochen. Die Substratdosierung für die Ansätze mit Lactat und Methanol erfolgte mittels eines Schlauchsystems, Schlauchmaterial Pharmed®, aus jeweils konzentriertem Medium SRM mit den entsprechenden Konzentrationen c_{Lactat} 0,069 M und c_{Methanol} 0,137 M in der ersten Versuchsreihe und c_{Lactat} 0,138 M und c_{Methanol} 0,274 M in der zweiten Versuchsreihe. Die Dosierung von H₂ erfolgte ohne Veränderung in den beiden Versuchsreihen über ein Schlauchsystem, Schlauchmaterial Viton®, aus dem Überdruck einer Gasleitung. Die Dosierung der Substrate wurde entsprechend der theoretisch verfügbaren Reduktionsequivalente bei vollständigem Umsatz der Substrate zur Sulfatreduktion gewählt. Die Dosierungsraten für die einzelnen Substratvorlagen betrugen für das Methanol- bzw. Lactatkonzentrat 0,207 ml/h und für H₂ 1,915 ml/h. Jeweils eine weitere Kanüle, die nur bis in den oberen

Bereich der Gasphase reichte, diente zum Druckausgleich. Aus den Ansätzen mit Lactat und Methanol wurde über ein Schlauchsystem an dieser Stelle jeweils das entweichende Gas in einem gekippten Messzylinder, der vollständig in gesättigter NaCl-Lösung versenkt war, aufgefangen und so vergleichend die Volumina an gebildetem Biogas bestimmt. Die Probenahme erfolgte mittels Kanülen, die durch die Stopfen in die Flüssigphase reichte. Bei der Kultivierung und Probenahme wurde weitgehend auf Energieeintrag (Durchmischung) verzichtet, um den Prozess und insbesondere sich ausbildende Strukturen gezielt möglichst ungestört zu belassen [Dannenberg et al. 1997]. Die *Fed-Batch*-Kultivierung erfolgte über einen Zeitraum von jeweils 14 Tagen. Der Aufbau kann Abbildung 2.10 entnommen werden. Nach Abschluss der Kultivierung wurden den Ansätzen Proben aus der Schlammpphase entnommen und direkt nach Entnahme mittels *Confocal Laser Scanning Microscopy* (CLSM) auf typische abiotisch-biotische Strukturen untersucht (vgl. Abschnitt 2.9.4.2). Die Versuche wurden regelmäßig beprobt. Es wurden aus den Proben jeweils die Konzentrationen an gelöstem Sulfat, DOC, Protein und VFA bestimmt (vgl. Abschnitt 2.9).

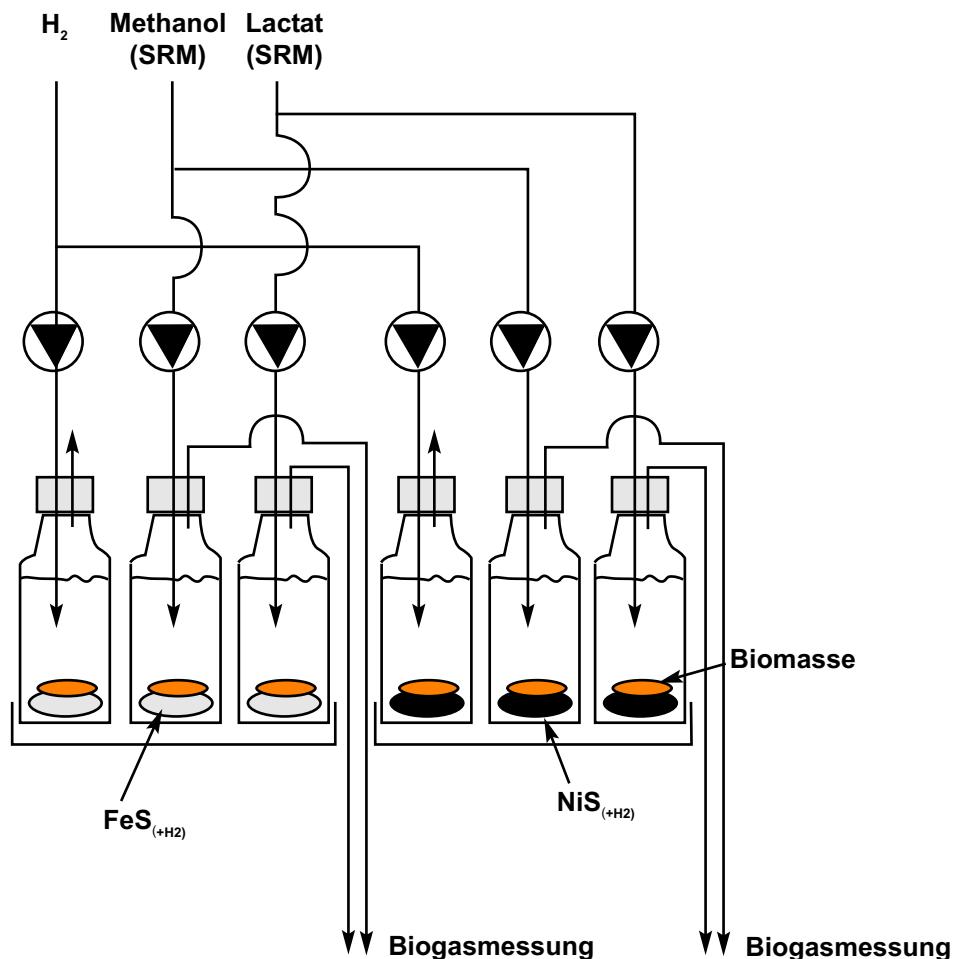


Abbildung 2.10

Fed-Batch-Kultivierung mit H_2 / Lactat / Methanol, Versuchsaufbau

2.8.4 Batch-Kultivierung von *Syntrophomonas wolfei* ssp. *wolfei*

Syntrophomonas wolfei spp. *wolfei* (DSMZ 2245 A, Braunschweig) wurde zunächst auf *Syntrophomonas*-Medium in Volumina von 10 ml angesetzt, diese Ansätze jeweils nach einer Inkubationszeit von sieben Tagen auf ein Volumen von 120 ml in Serumflaschen transferiert (randvoll gefüllt). Diese Ansätze wurden für einen Zeitraum von sieben Tagen bei 30°C inkubiert. Nach dieser Zeit wurden die Ansätze dann auf ein Volumen von 500 ml transferiert und wiederum sieben Tage bei 30°C inkubiert. Alle Arbeiten einschließlich der Inkubation fanden in der Anaerobenwerkbank Bactron AB 1100 unter N₂-H₂-Atmosphäre (95/5 % v/v) statt. Am Ende der Vorkultivierungsperiode konnten lebende Zellen in den Ansätzen nachgewiesen werden, jedoch waren die Biomassekonzentrationen sehr gering.

Vor Versuchsansatz wurden ca. 10 cm lange Dialyseschläuche vorbereitet, die wiederum an einem Ende mit Kabelbindern verschlossen wurden. In jeden Dialyseschläuch wurde ein Kiesel gegeben (Ø ca. 10 mm, 3fach autoklaviert bei 121°C, 20 min), der im späteren Versuch einen Auftrieb des Dialyseschläuchs verhindern sollte (siehe Abbildung 2.11). Die so vorbereiteten Dialyseschläuche wurden autoklaviert (121°C, 20 min). Nach Abschluss der oben beschriebenen Vorkultivierung wurden jeweils 50 ml aus der Vorkultur entnommen und fünf 100 ml Serumflaschen mit je 50 ml Kultur beimpft. Ein weiterer Ansatz wurde vorbereitet unter Vorlage von unbeimpftem Medium. Unmittelbar nach Vorlage der Kultur wurde der Dialyseschläuch mit der entsprechenden Befüllung zugegeben und die einzelnen Gefäße dicht mit Chlorbutylgummistopfen verschlossen. Es wurden sechs Ansätze mit unterschiedlicher Schlammdosierung parallel inkubiert. Wiederum wurden vergleichend jeweils Schlämme eingesetzt, die zuvor unter N₂-Atmosphäre gelagert wurden ([NiFe]-S) und solche, die zuvor für einen Zeitraum von 48 Stunden unter H₂-Atmosphäre gelagert wurden ([NiFe]-S_{+H2}). Die jeweilige Schlammzugabe kann Tabelle 2.13 entnommen werden.

Tabelle 2.13:

Batch-Kultivierung von *Syntrophomonas wolfei* ssp. *wolfei*, Schlammzugabe

| Ansatz | Schlammzugabe | Abb. |
|-----------------------------------|---|---------------|
| Blindansatz | / | |
| Blindansatz unbeimpftes Medium | Schlamm im Medium (10ml) | |
| [NiFe]-S | Schlamm in Dialyseschläuch (10 ml) | 2.11 a |
| [NiFe]-S | Schlamm in Kultur (10 ml) | 2.11 b |
| [NiFe]-S _{+H2} | Schlamm in Dialyseschläuch (10 ml) | 2.11 a |
| [NiFe]-S _{+H2} | Schlamm in Kultur (10 ml) | 2.11 b |

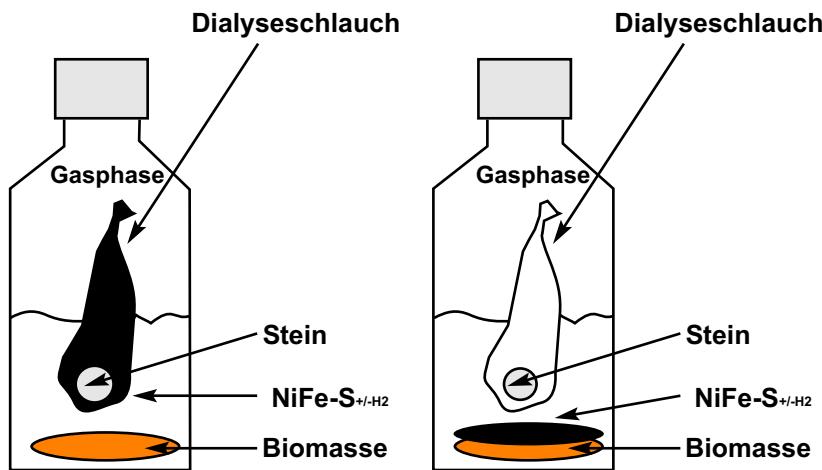


Abbildung 2.11:

Batch-Kultivierung von *Syntrophomonas wolfei* in Anwesenheit von metallsulfidischen Schlämmen, Versuchsaufbau

- a) Kultivierung bei Trennung von Biomasse und Schlamm durch Dialyse-schlauch
- b) Kultivierung bei direktem Kontakt von Biomasse und Schlamm

Nach Beimpfung wurden in allen Ansätzen zunächst nochmals 0,8 ml 0,5 M Buttersäure-Lsg. (pH 6) zugegeben und anschließend mit einer gasdichtenen Spritze über eine dünne Kanüle 5 ml H₂ injiziert. Die anschließende Inkubation erfolgte in der Anaerobbox unter einer N₂-/H₂-Atmosphäre (95/5% v/v) wobei die Flaschen in schräger, abwärtsgeneigter Position gelagert wurden, so dass die Innenseite des Stopfens ständig mit Flüssigkeit überdeckt war. So sollte eine Möglichkeit des Gastransfers mit der umgebenden Atmosphäre in der Anaerobbox minimiert werden. Die Inkubation erfolgte über einen Zeitraum von acht Tagen bei 30°C. Die Probenahme erfolgte regelmäßig über eine Kanüle aus der jeweils voll durchmischt Probe. Es wurden aus den Proben jeweils die Konzentrationen an gelöstem Sulfat, DOC, Protein und VFA bestimmt (vgl. Abschnitt 2.9).

2.8.5 Kontinuierlicher Prozess mit *Synthetischem Eluat* (SE)

Die einstufigen kontinuierlichen Versuche im Rührreaktor wurden in Anlehnung an die in Abschnitt 2.6 beschriebene Vorgehensweise in den dort genannten Fermentersystemen unter Verzicht auf eine vorgeschaltete Elutionsstufe R₁ durchgeführt. Verwendet wurde Medium SRM mit entsprechender Zugabe eines löslichen Substrates (*Synthetisches Eluat*, SE), das in 1000 ml DURAN®-Flaschen vorgelegt und über ein

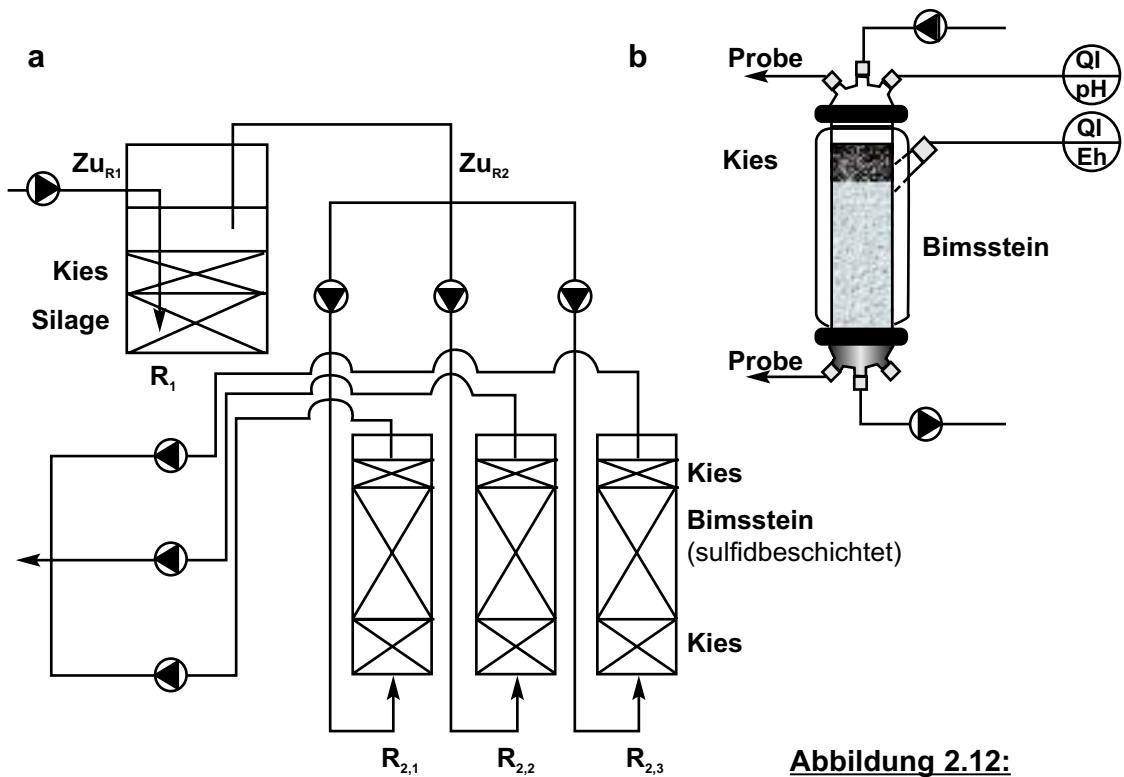
Schlauchsystem, Schlauchmaterial PharMed®, und einen speziellen Zulaufstutzen mittels einer Schlauchpumpe (Watson Marlow, Rommerskirchen) in unterschiedlichen Raten dosiert wurde. Die genauen Dosierungsrationen sind bei Darstellung der Ergebnisse angegeben. Zu verschiedenen Zeitpunkten wurden unterschiedliche Volumina FeS-Suspension über einen Stutzen in die flüssige Phase injiziert. Die Versuche wurden regelmäßig beprobt. Es wurden aus den Proben jeweils die Konzentrationen an gelöstem Sulfat, DOC, Protein und VFA bestimmt (vgl. Abschnitt 2.9).

2.8.6 Kontinuierlicher Prozess in Festbettreaktoren

Es wurden die Glassäulen eingesetzt, die bereits in Abschnitt 2.5 beschrieben wurden. Wiederum wurden drei Säulen als R_2 parallel betrieben. Eine Vorlage R_1 wurde installiert, aus der alle R_2 simultan gespeist wurden. In Abbildung 2.12 a ist das Verfahrensfließbild zum Versuch dargestellt. Als Elutionsstufe R_1 wurde eine 5000 ml DURAN®-Flasche eingesetzt. Es wurden 250 g TS Silage eingewogen und mit 1500 g Kies überschichtet. Das Volumen der flüssigen Phase betrug 3000 ml. Als Medium wurde im kontinuierlichen Betrieb Medium SRM und Medium SRM-Fe eingesetzt. Die Verweilzeit in R_1 betrug zwischen 56,39 h und 66,79 h. Aufgrund der Betriebsbedingungen kam es zu Volumenschwankungen in R_1 , die nach optischem Urteil ausgeglichen wurden, so dass die angegebene Verweilzeit lediglich ein ungefähres Maß darstellte. Der Aufbau der Säulen erfolgte nach Abbildung 2.12 b. Im unteren Teil jeder Säule wurde autoklavierter grober Kies (300 g) eingefüllt. Oberhalb der Kiesschicht wurde ein Bimssteinbett (Korngröße 0,8-3,0 mm, 315 g) geschichtet. Die Bimssteinschicht wurde wiederum mit einer Kiesschicht (150 g) überdeckt. Die Säulen wurden mit *Upflow*-Modus betrieben. Das Volumen der flüssigen Phase betrug 500 ml. Die Verweilzeit in R_2 betrug zwischen 38,43 h und 44,84 h. Der Gasraum der jeweiligen Säulen wurde kontinuierlich mit N_2 begast. Die Säulen wurden vor Versuchsbeginn unter anaeroben Bedingungen mit unterschiedlichen metallsulfidischen Suspensionen befüllt, vgl. Tabelle 2.14. Die Versuche wurden regelmäßig beprobt. Es wurden aus den Proben jeweils die Konzentrationen an gelöstem Sulfat, DOC, Protein und VFA bestimmt (vgl. Abschnitt 2.9).

Tabelle 2.14:
Metallsulfidische Suspensionen

| Säule 1 | Säule 2 | Säule 3 |
|---------|----------|----------|
| FeS | [NiFe]-S | [CuFe]-S |

**Abbildung 2.12:**

Säulenversuch zweistufig

a) Verfahrensfließbild

b) Aufbau der Säule

2.9 Analytik

2.9.1 Wässrige Phase

Bestimmung der organischen Säuren (Volatile Fatty Acids, VFA)

Die VFA (Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Isobuttersäure, Valeriansäure, Isovaleriansäure und Capronsäure) wurden mittels GC-MSD, Geräte HP 6890 und HP 5973 (Hewlett-Packard, Palo Alto, Ca, USA) bestimmt. Der GC war ausgestattet mit einer DB-FFAP-Säule, 30 m x 0,32 mm, 0,25 µm Film (J&W, Fisions, Mainz, Germany). Die Injektion (splitlos) erfolgte bei 280°C, die Messung erfolgte mit Temperaturprogrammierung (70°C, 2 min; 12°C/min bis 200°C; 7,17 min gehalten). Der MSD wurde im EI-Modus mit SIM (Massenzahlen 60, 73, 88; Source 230°C, Quadrupole 150°C) betrieben. Zur Aufbereitung wurden die Proben im Verhältnis 1:10 mit 1N H₂SO₄ angesäuert, um die gelösten VFA in die Gasphase zu überführen. Die zu analysierenden Verbindungen wurden mittels Festphasenmikroextraktion (SPME) durch Adsorption (15 min) an einer Fused-Silica-Faser (polyacrylatbeschichtet) (Supelco, Bellefonte, PA, USA) aus der Gasphase spezieller Mikroextraktionsgefäß (Supelco, Bellefonte, PA, USA) angereichert. Die Desorption erfolgte durch direkte Einführung der Faser in den GC-Injektor. Die Analysen wurden im Konzentrationsbereich von 20 bis 100 µg/ml durchgeführt. Als interner Standard wurde 2-Ethylbuttersäure eingesetzt.

Sulfat

Sulfat wurde ionenchromatographisch (DX-100, Ionenchromatograph, DIONEX Co., Sunnyvale CA, USA) oder photometrisch mit dem Spectroquant® Schnelltest 14791 (Merck KgaA., Darmstadt) bestimmt. Zur Aufbereitung wurde die Probe zentrifugiert (10000 g, 5 min). Der Kulturüberstand wurde für die photometrische Methode 1:10 bzw. 1:20 verdünnt. Die Kalibration der Messung erfolgte unter Verwendung von Na_2SO_4 (wasserfrei) im Bereich von 0,0 - 2,0 mM Sulfat. Für die ionenchromatographische Messung war eine Verdünnung von 1:100 bis 1:200 notwendig (H_2O bidest.). Die Messung erfolgte am Hitachi® Spektralphotometer U-2000.

Lactat

Die Bestimmung der Lactatkonzentration erfolgte photometrisch mit dem Lactate Assay Kit 735-10 (Sigma Diagnostics®, St. Louis, USA), basierend auf der enzymatischen Umwandlung von Lactat zu Pyruvat und Wasserstoffperoxid durch Lactatoxidase. Zur Aufbereitung wurde die Probe zentrifugiert (10000 g, 5 min). Der Kulturüberstand wurde unverdünnt bis 1:4-fach verdünnt gemessen. Die Messung erfolgte am Hitachi® Spektralphotometer U-2000 bei 540 nm nach einer Reaktionszeit von sieben Minuten.

Protein

Die Proteinbestimmung erfolgte photometrisch nach der Methode von Bradford (1976) unter Verwendung von Bioquant® Protein-Reagenzlösung 1.10306 (Merck KgaA, Darmstadt). Zur Aufbereitung wurde die Probe zentrifugiert (10000 g, 5 min) und das Pellet mit 1N NaOH bei 100°C lysiert. Die Kalibration erfolgte im Bereich 0-100 mg/l mit RSA Fraktion V. Die Messung erfolgte am Hitachi® Spektralphotometer U-2000 bei 595 nm nach einer Reaktionszeit von zwei Minuten.

Metalle und Metalloide

Arsen wurde mittels flammenloser AAS (Gerät PE ZL 4100 mit FIAS 400, Perkin Elmer) mit Hydridtechnik in Kombination mit Graphitrohrtechnik in einem Kalibrationsbereich von 0,5 bis 10 $\mu\text{g/l}$ bestimmt. Cadmium und Zink (Zink in geringen Konzentrationen im Bereich < 1 $\mu\text{g/ml}$) wurden mit Graphitrohr-AAS (Gerät SIMAA 6000, Perkin Elmer) ausgestattet mit Zeeman-Untergrundkorrektur unter optimiertem Temperatur-Zeit-Programm bestimmt. Alle übrigen Metalle wurden mit ICP-AES (Geräte Spectroflame P/M und CIROS, Spectro A.I., Kleve) mit pneumatischer Zerstäubung gemessen. Die Messung erfolgte mit Untergrund-Korrektur nach Auswahl geeigneter interferenzfreier Emissionslinien in einem Kalibrationsbereich von vier bis fünf Größenordnungen. Alle Proben wurden mit 1N HNO_3 bzw. 1N H_2SO_4 angesäuert. Für die Messungen mit ICP-AES war eine Probenverdünnung auf 10 ml mit H_2O (bidest.) notwendig. Für die Messungen von Arsen mit AAS war ein Probenvolumen von 250 μl , für Zink und Cadmium ein Probenvolumen von 20 μl ausreichend.

Kohlenstoff

Die Variablen DOC (gesamter *Gelöster Organischer Kohlenstoff*) und IC (*Anorganischer Kohlenstoff*) wurden mit einem TOC-Analysator TOC-5050® bestimmt. Der anorganische Kohlenstoff wurde durch ein Trägergas (hochreine Luft) aus der zuvor angesäuerten Probe (max. 2000 µl) entfernt und als Kohlendioxid gemessen. Die Messung des Gesamtkohlenstoffs erfolgte im Anschluss an Verbrennung der Probe (max. 2000 µl) bei 680°C in Anwesenheit eines Oxidationskatalysators als Kohlendioxid. Die Detektion erfolgte mittels eines nicht-dispersiven Infrarotgasanalysators. Die DC-Konzentration ergibt sich als Summe aus DOC- und IC-Konzentration. Zur Aufbereitung wurden die Proben zentrifugiert (10000 g, 5 min) und 1:5 bis 1:10 verdünnt (H₂O bidest.).

2.9.2 Kohlenstoff in der Festphase

Die Variable TOC (*Gesamter Organischer Kohlenstoff*) wurde analog dem DOC (vgl. Abschnitt 2.9.1) mit einem TOC-Analysator TOC-5050® im Anschluss an die Verbrennung der Probe bei 680°C in Anwesenheit eines Oxidationskatalysators als Kohlendioxid gemessen.

2.9.3 Wasserstoff in der Gasphase

Zur Bestimmung der Wasserstoffkonzentration wurde ein Process Gas Analyser ta3000R (TRACE Analytical, Menlo Park, Ca, USA) eingesetzt (Detektor: HgO bei 265°C, Mobile Phase: N₂). Die Injektion der Probe erfolgte mittels gasdichter Spritzen, Volumina: 0,5 ml bzw. 2,0 ml.

2.9.4 Mikroskopie

2.9.4.1 Lichtmikroskopie

Zur mikroskopischen Prüfung der Kulturen wurde ein Axiolab Durchlichtmikroskop in Verbindung mit einer MC 80 Mikroskop-Kamera (beide Geräte: Carl Zeiss Microscope Division, Oberkochen) eingesetzt.

2.9.4.2 Confocal Laser Scanning Mikroskopie

Färbung

Die Färbung der Proben erfolgte zum einen mit dem nukleinsäure-spezifischem Fluorochrom Syto 9, zum anderen mit dem protein-spezifischen Fluorochrom SyproOrange (beide Molecular Probes, Eugene, Oregon). Syto 9 wurde in einer Verdünnung von 5 µl/5 ml (dest. H₂O) eingesetzt, SyproOrange in einer Verdünnung von 10 µl/1 ml (dest. H₂O).

Montage

Die Proben der Schlammsuspensionen wurden zur Untersuchung auf einen Objektträger mit speziellen Probekammern, CoverWellTM, 0,5 mm tief (Molecular Probes, Eugene, Oregon) gegeben.

Mikroskop

Eingesetzt wurde das Gerät TCS SP in Kombination mit einem Mikroskop (Leica, Heidelberg, Deutschland) mit dem Objektiv 63x 0.9 NA. Die Steuerung des Laser Scanning Mikroskopes erfolgte mit der Leica Confocal Software Version 2.00 Build 0477. Das Gerät war ausgestattet mit drei sichtbaren Lasern: Ar (458 nm, 476 nm, 488 nm, 514 nm), Kr (568 nm), He/Ne (633 nm). Syto 9 wurde mit 488 nm angeregt, die Detektion erfolgte im Bereich 500-550 nm, SyproOrange wurde ebenfalls mit 488 nm angeregt, die Detektion erfolgte im Bereich von 580-620 nm. Die Reflexion wurde nach Anregung mit 488 nm bei 480-500 nm detektiert. Die Aufnahmen der optischen Schnitte wurden in Abständen von 1 µm durchgeführt.

Bildbearbeitung

Die Bildauswertung erfolgte mit der Software IMARIS Version 3.06 (Bitplane, Zürich, Schweiz) oder der Software AMIRA Version 2.6 (TGS, San Diego, USA). Die Abbildungen wurden erstellt mit Photoshop Version 5.5 (Adobe, San Jose, USA).

2.10 Modellierung und Simulation

Zur Modellierung und Prozesssimulation wurde die Software *Berkeley MADONNA* 8.0.1 (University of California at Berkeley, USA) eingesetzt.

2.11 Material und Zubehör

Material und Geräte

Häufig verwendete Materialien sind in Tabelle 2.15 aufgeführt. Wiederholt genannte Geräte sind entsprechend in Tabelle 2.16 aufgeführt.

Tabelle 2.15:

Materialien

| Material | Hersteller, Lieferant |
|--|--|
| Duran -Flaschen | Schott, Mainz |
| Zentrifugenrörchen | Corning, Merck KgaA., Darmstadt |
| AnaeroJar-Polycarbonattöpfe mit AnaeroGenTM-Anaerobiersystem | Oxoid Ltd., Basingstoke, UK |
| Transfusionsflaschen | Glasgerätebau Ochs, Bovenden |
| Serum-Flaschen | Glasgerätebau Ochs, Bovenden |
| Nalgene Oak Ridge Zentrifugenrörchen | Nalge Nunc, Rochester, NY, USA |
| Schlauchmaterial PharMed | Merck KgaA., Darmstadt |
| Dialyseschläuche | Nadir , Roth, Karlsruhe |
| Gewindekappen | Merck KgaA., Darmstadt |
| Kabelbinder | Merck KgaA., Darmstadt |
| Schlauchmaterial Viton | Du Pont De Nemours, Coatesville, PA, USA |

Tabelle 2.16:

Geräte

| Geräte | Hersteller, Lieferant |
|-----------------------------------|-----------------------|
| Anaerobenwerkbank Bactron AB 1100 | UniEquip, Leipzig |
| Hitachi Spektralphotometer U-2000 | Colora, Lorch |
| TOC-Analysator TOC-5050 | Shimadzu, Duisburg |

Chemikalien und Gase

Soweit nicht anders angegeben, wurden Chemikalien in p.a.-Qualität von Merck KgaA, Darmstadt bzw. Carl Roth GmbH & Co., Darmstadt verwendet. Gase und Prüfgase wurden von LINDE Technische Gase, Leuna bezogen.

3 Ergebnisse

3.1 Verfahrenskonzept

3.1.1 Anforderungen an das Verfahren

Die Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit zielten auf die Entwicklung eines *passiven* langzeitstabilen und gleichzeitig biotechnologischen Verfahrens zur Reinigung von Bergbauabwässern. Dabei wurde angestrebt, mikrobiologische Sulfatreduktion in das Kernstück zu stellen und *Feste Substanzgemische* (FSG, möglichst industrielle Neben- und Abprodukte) als Quelle für Substrate einzusetzen. Die Herangehensweise war geprägt durch folgende grundsätzlichen Fragestellungen:

- Auf welche Reinigungsmechanismen in Abstimmung auf die abwasserspezifische Schwermetallbelastung muss das Verfahren im Kern gegründet sein; welche Prozesskomponenten sind notwendig und auf welche Komponenten kann aus Gründen der Minimierung der Komplexität verzichtet werden?
- Wie kann ein Verfahren gestaltet werden, um die Kapazität zur Schwermetalleliminierung auf die langen Behandlungszeiträume anzupassen?
- Welche technischen bzw. biotechnologischen Möglichkeiten können eingesetzt werden, um mit minimalem technischen und ökonomischen Aufwand das Reinigungsziel *Schwermetalleliminierung* stabil zu erreichen?

Zu Beginn der Arbeiten galt als Arbeitsziel, dass die beiden Prozesse Sulfatreduktion und Schwermetallfällung nach Möglichkeit technisch einstufig erfolgen sollten. Diese Verfahrensvariante sollte angestrebt werden, da es technische (z.B. Effektivität der Metallfällung) und ökonomische (z.B. Anlagenkosten) Vorteile versprach. Auf der anderen Seite erschien eine Trennung von Sulfatreduktion und Schwermetallfällung zunächst nicht notwendig, da eine *prozesstoxische* Wirkung der Schwermetalle in geringen Konzentrationen nicht anzunehmen war.

Die weiteren Komponenten des *Passiven Systems* mussten so gewählt und gestaltet werden, dass mikrobielle Sulfatreduktion und Schwermetalleliminierung in allen Prozessphasen stabil gewährleistet werden konnten.

Dabei wurde zunächst eine grundsätzliche Unterteilung der Verfahrenskomponenten in folgende Funktionseinheiten bzw. -module angenommen:

Stufe 1: Elutionstufe (R₁)

Bereitstellung der Kohlenstoff- und Energiequelle durch mikrobielle Umsetzung eines *Festen Substanzgemisches* (industrielle Ab- oder Nebenprodukte)

Stufe 2: Anaerobstufe (R₂)

Sulfatreduktion und Metalleliminierung

Stufe 3: Sulfideliminierung (R₃)

Reaktionsraum zur Elimination überschüssigen Sulfids bzw. Schwefelwasserstoffs

Stufe 4: Nachklärung (R₄)

Reaktionsraum zur aeroben Nachklärung zur Entfernung des Rest-DOC

3.1.2 Elutionstufe (R₁)

Bei der Bereitstellung der organischen Verbindungen wurde vermutet, dass im Prozessverlauf zwischen zwei Phasen unterschieden werden musste:

1. Phase: Elution (gehört chemisch - physikalischen Mechanismen)
2. Phase: Mikrobiell katalysierte Freisetzung von Metaboliten
(*Aktive Elution*)

In beiden Phasen, die entsprechend dem gewählten FSG zeitlich unterschiedlich ausgedehnt waren, musste gewährleistet sein, dass ausreichend Elektronendonator zur Sulfatreduktion bereitgestellt wurde, so dass das Reinigungsziel *Metalleliminierung* stabil erreicht werden konnte. Gleichzeitig musste die Freisetzung der organischen Verbindungen entsprechend limitiert sein, dass es nicht zu einer übermäßigen Freisetzung von toxischem Schwefelwasserstoff kam.

Es war anzunehmen, dass eine Stabilisierung der DOC-Konzentration in der ersten Phase nicht erreicht werden konnte (Annahme der Elution löslicher Verbindungen als chemische Reaktion erster Ordnung) und dass in dieser Phase die Menge an eluiertem DOC exponenziell absank. Obwohl dies nicht eindeutig mit der Stabilisierung der mikrobiellen Sulfatreduktion korrelieren musste, da nicht zwingend konstante Ausbeutekoeffizienten vermutet werden mussten, ist es die zweite Phase, die im Prozessverlauf angestrebt wurde. Die technische Stufe R₁ wurde hiermit zu einer vorgeschalteten Bioreaktoreinheit, in der polymere organische Verbindungen nach dem in Abschnitt 1.3 dargestellten Prinzip umgesetzt wurden. Für diesen mikrobiellen Vorgang wurde der Begriff *Aktive Elution* geprägt.

Die Trennung der beiden Zonen R₁ und R₂ wurde als essenziell angesehen, da zum einen aus technischer Sicht anzustreben war, dass aufgebrauchtes FSG, das nicht

länger die erforderliche Menge an DOC bereitstellte, ausgetauscht werden konnte, ohne die Funktionalität von R_2 zu beeinträchtigen. So konnten problematische langwierige Startphasen und damit instabile Prozessphasen potenziell vermieden werden. Zum anderen sollte infolge der Trennung nicht der gesamte verfügbare TOC des FSG zur Verfügung gestellt werden, sondern nur ein bestimmter limitierter Anteil als DOC im Ablauf von R_1 .

3.1.3 Anaerobstufe (R_2) - Sulfatreduktion und Schwermetalleliminierung

Mit dem Eluat aus R_1 sollte ausreichend Kohlenstoff- und Energiequelle für Wachstum und Stoffwechsel der *Sulfatreduzierenden Bakterien* bereitgestellt werden. Als Folge der Sulfidogenese sollten die Schwermetalle aus dem Abwasserstrom entfernt und in R_2 immobilisiert werden (Gleichungen 1.1 und 1.2 in Abschnitt 1).

3.1.4 Sulfideliminierung (R_3) und Nachbehandlung (R_4)

Die Eliminierung von Sulfid bzw. der toxischen undissoziierten Verbindung, dem Schwefelwasserstoff, ist ein Problem in der anaeroben Anbwasserbehandlung. Die technischen Möglichkeiten zur Sulfideliminierung im Rahmen der Verfahrenskonzeption waren gering. Die mehr oder minder etablierten Verfahren, die in biotechnologischen Prozessen eingesetzt werden, sind simultane oder nachgeschaltete Fällung mittels eisenhaltiger Verbindungen, Stripping von H_2S oder chemische Oxidation zu elementarem Schwefel. Eine weitere Möglichkeit ist die mikrobiologische Oxidation von Sulfid, die in den letzten Jahren in technischen Prozessen zur Biofiltration an Bedeutung gewonnen hat [z.B. Veritz 1988, Buisman et al. 1990, Jansen et al. 1995]. Lediglich letztere Möglichkeit war im Rahmen der Konzeption zunächst relevant. Eine Kopplung der Sulfideliminierung (R_3) mit der Nachklärung (R_4) erschien möglich. Die Nachklärung hatte die Aufgabe eventuelle Restkonzentrationen an DOC vor der Einleitung der gereinigten Wässer zu entfernen.

3.1.5 Potenzial zur Selbststabilisierung des Prozesses

Ein entscheidender Grund zur Entwicklung *Passiver Verfahrens* ist unter anderem im Aspekt der Langzeit-Stabilisierbarkeit zu sehen. Die Abschätzung und Entwicklung des Potenzials zur Selbststabilisierung der einzelnen Funktionen und damit letztlich der Schwermetalleliminierung sowie der Entwicklung ergänzender technischer Möglichkeiten zur Prozessstabilisierung war im Rahmen der Arbeit besondere Aufmerksamkeit zu widmen. Darüber hinaus wurde schon durch die experimentelle Vorgehensweise angestrebt, frühstmöglich diese Stabilität zu erreichen. Folgende potenziell prozessstabilisierenden Einflüsse sollten zunächst berücksichtigt werden:

Start mit einer komplexen Mischkultur, Selektion unter kontinuierlichen Bedingungen

In anaeroben Prozessen konkurrieren viele und unterschiedliche Mikroorganismen um eine limitierte Menge an Elektronendonator, d.h. im Allgemeinen um organische Verbindungen (vgl. Abschnitt 1.3). Um zu erreichen, dass die terminale elektronen-akzeptierende Reaktion unter schwankenden Prozessbedingungen (z.B. Veränderungen der DOC-Konzentration) mikrobielle Sulfatreduktion war, musste eine möglichst stabile Mischkultur eingesetzt werden, die an diese prozessspezifischen Bedingungen adaptiert war. Diese Adaptation kann bei der biotechnologischen Umsetzung von anaeroben Prozessen erhebliche Zeiträume von mehreren Monaten in Anspruch nehmen. In der Wahl einer möglichst komplexen Mischkultur und kontinuierlicher Selektion geeigneter Organismen im Prozessverlauf war somit die erste Möglichkeit zur Prozessstabilisierung zu vermuten.

Aktive Elution

Beim anaeroben Abbau *Fester Substanzgemische* sind zunächst drei mikrobielle Reaktionstypen zu vermuten (vgl. Abschnitt 1.3). Zuerst werden polymere Verbindungen zu löslichen Verbindungen hydrolysiert. Diese Verbindungen werden dann durch primäre und sekundäre Gärer fermentativ zu kurzkettigen Fettsäuren (VFA), Alkoholen und molekularem Wasserstoff umgesetzt. Diese Verbindungen stehen danach für unterschiedliche terminale Prozesse, z.B. für Sulfatreduktion und Methanogenese zur Verfügung. Es wurde an anderer Stelle festgestellt, dass der erste Schritt, die hydrolytische Freisetzung von organischen Molekülen, die Kinetik und Geschwindigkeit des Gesamtprozesses bestimmt [z.B. Huang und Chou 1990]. Im dargestellten Prinzip der *Aktiven Elution* war damit ein potenzieller Mechanismus zur Stabilisierung der DOC-Freisetzung und daraus resultierend zur Limitierung der Sulfatreduktion zu sehen.

Versauerungspotenzial der Elutionsstufe (R_e)

Bei der Behandlung von Bergbauwässern, die z.B. als Haldensickerwässer anfallen, muss entsprechend der Niederschlagsereignisse und der technischen Verwahrung der Halden mit stark schwankenden hydraulischen Beladungen der Reaktionseinheiten gerechnet werden. Es wurde angenommen, dass es bei schwankenden Verweilzeiten potenziell zu erheblichen Prozessstörungen kommen kann. Da die Sulfatreduktion limitiert werden musste mit Blick auf vorhandene Schwermetallkonzentrationen, musste die Bereitstellung von Substrat auf diese angepasst werden. Eine solche Limitierung konnte potenziell erreicht werden, indem der normale Betriebspunkt der Elutionseinheit nur geringfügig oberhalb des pH-Wertes zur Versauerung lag. Eine Schwankung der hydraulischen Beladung, d.h. eine Erhöhung der Verweilzeit würde eine Senkung des pH-Wertes bewirken und die mikrobiellen Prozesse zur DOC-Freisetzung zunächst inhibieren.

Einfluss von Schwermetallsulfiden / Fällungsprodukten

Die Verfahrenskonzeptionierung sah zunächst keine Trennung von Sulfidogenese und Schwermetallfällung vor. Die metallsulfidischen Verbindungen würden in R₂ verbleiben und nur ein geringer Anteil der sedimentierten Metallfracht diskontinuierlich entfernt werden. Die mikrobiellen Prozesse innerhalb von R₂ ließen somit in Gegenwart der Schlämme ab. Sulfatreduktionsprozesse in einem solchen Milieu wurden bisher nur in Ansätzen untersucht und die vorliegenden Ergebnisse lassen nicht unmittelbar Schlüsse auf den grundlegenden, d.h. tatsächlichen Einfluss der Fällungsprodukte zu. Im gegenwärtigen Stadium der Forschung wird der Einfluss der Sedimente in unterschiedlichen Studien dahingehend kontrovers diskutiert, ob die Wirkung prozessfördernd oder inhibierend ist [u.a. Liu und Fang 1998, Utgikar et al. 2002]. Obwohl zunächst inhibierende Einflüsse vermutet werden gehen aus verschiedenen Untersuchungen hervor, dass die anaeroben mikrobiellen Prozesse hinsichtlich ihrer Kinetik auch positiv beeinflusst werden können [Szewzyk 1987, Szewzyk und Schink 1991, Fukui und Takii 1994]. Es wird außerdem berichtet, dass SRB zu einem hohen Anteil an der Oberfläche metallsulfidischer Verbindungen angesiedelt, d.h. möglicherweise als Biofilm immobilisiert sind [Utgikar et al. 2002]. Jedoch wird keine eindeutige Aussage möglich, ob dies ein Folge der Metallfällung an der Zelloberfläche ist, oder tatsächlich eine Besiedelung der Oberflächen erfolgt. In beiden Fällen jedoch, wäre die Schlammoberfläche ein prozessrelevantes Trägermaterial, dessen Auswirkungen auf mikrobielle Stoffflüsse untersucht werden muss.

In anderen Untersuchungen wurde dagegen angestrebt, die physikalisch-chemischen Eigenschaften von biogen gefälltem Eisenmonosulfid, FeS, zu charakterisieren. Man kommt zu dem Ergebnis, dass diese kolloidalen bis feindispersen Fällungsprodukte *in-situ* eine Oberfläche von ca. 500 m² g⁻¹ TS haben und eine hohe Kapazität zur Schwermetallsorption aufweisen [Watson et al. 1995]. Ein solcher Cofällungs-Mechanismus ist ebenfalls als prozessrelevant einzustufen.

3.2 Auswahl und Erprobung der *Festen Substanzgemische* (FSG)

3.2.1 Auswahlkriterien und Vorauswahl

Mit der Zielstellung ein *Festes Substanzgemisch*, das nach Möglichkeit kostengünstig als Neben- oder Abprodukt an anderer Stelle anfällt, einzusetzen, wurde zunächst eine Vorauswahl getroffen. Eine potenzielle Eignung für den technischen Prozess sollte anhand von vier Prüfkriterien festgestellt werden.

Kosten und Verfügbarkeit

Um die Betriebskosten des Verfahrens von Beginn an gering zu halten und die Konkurrenzfähigkeit zu herkömmlichen Verfahrenstechniken zur Reinigung von metallhaltigen Abwässern zu gewährleisten, mussten kostengünstige Betriebsmittel einge-

setzt werden. Das FSG sollte also preisgünstig ohne großen Transportaufwand über-regional und unabhängig von saisonalen Produktionsschwankungen verfügbar sein.

Bereitstellung von löslichen organischen Verbindungen aus FSG

Aus dem FSG mussten lösliche organische Verbindungen (DOC) in ausreichender Menge freigesetzt werden können. Dabei war zu unterscheiden zwischen Bereitstellung des DOC infolge von physikalisch-chemischer Elution und Freisetzung infolge eines biologischen Abbaus polymerer Verbindungen. Während erster Mechanismus für die Anfahrphase des Prozesses relevant war, sollte die biologische Abbaubarkeit die Langzeitverfügbarkeit von DOC gewährleisten.

Verfügbarkeit der gelösten organischen Verbindungen für mikrobielle Sulfatreduktion

Der eluierte DOC sollte zu einem möglichst hohen Anteil zur Sulfatreduktion genutzt werden können. Dabei sollten gleichzeitig keine schwer abbaubaren Verbindungen ins Wasser gelangen, die eine weitere Nachbehandlung des Wassers notwendig machen würden. Auch sollte das FSG so gewählt werden, dass keine Inhibierung des Sulfat-reduktionsprozesses zu erwarten war.

Verhalten der FSG gegenüber gelösten Salzen, insbesonders Schwermetallionen

Die Elution des DOC aus dem FSG sollte unabhängig von Schwankungen der Schwermetallkonzentrationen sein. Darüber hinaus war zu beachten, dass das FSG selbst keine ausgeprägte Adsorptionsfähigkeit gegenüber relevanten Schwermetall-ionen hatte, da ansonsten eine Entsorgung des verbrauchten FSG als Sonderabfall notwendig würde, sofern keine zusätzliche Aufbereitung für das verbrauchte Substanz-gemisch vorgesehen würde.

Vorauswahl der FSG

Von den zunächst gewählten FSG wurden nach anfänglichen Untersuchungen in erster Linie aufgrund schlechter Verfügbarkeit Pressschnitzel, Apfeltrester und Melasse ausgeschlossen. Die verbleibenden Substanzgemische Silage, Bleicherde, Biertreber, Heu, Holzspäne wurden in weiteren Versuchen eingesetzt.

3.2.2 Elutionsverhalten der *Festen Substanzgemische* (FSG)

In Elutionsversuchen sollte untersucht werden, welche Kapazität zur DOC-Freisetzung die einzelnen FSG in Abhängigkeit von Elutionszeit (maximal 24 h) und pH-Wert des Elutionsmediums aufwiesen. Die Elution von organischen Verbindungen infolge von rein physikalisch-chemischer Elution war eine entscheidende Größe in der Startphase des Prozesses bzw. bei Austausch des FSG, d.h. bei Vorlage von frischem FSG im laufenden Prozess. In Tabelle 3.1 sind zunächst für die FSG Silage, Bleicherde,

Biertreber, Heu und Holzspäne die DOC-Konzentrationen nach 2,5 Stunden in Abhängigkeit des pH-Wertes (pH 2 bis pH 10) dargestellt. Eine weitere Freisetzung von organischen Verbindungen nach 24 Stunden Elutionszeit, bzw. eine Minderung der anfänglich gemessenen Konzentration, ist als prozentuale Änderung zum ersten Wert angegeben.

Tabelle 3.1:

Elution von DOC in Abhängigkeit des pH-Wertes und der Elutionszeit
(Elution: 24 h, 35 g TS / 350 ml Medium SRM, RT, aerob)

| FSG | | pH-Wert | | | | | | | | | |
|------------|------------------|---------|-------|------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|--|
| | | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | |
| Silage | 2,5 h (mg/l) | 4265 | 4161 | 4743 | 4133 | 4040 | 3613 | 4272 | 4399 | 4383 | |
| | 24 h (% Abw.) | 3,34 | 2,32 | 1,62 | 5,55 | 7,94 | 19,84 | 7,55 | 3,24 | 21,19 | |
| Bleicherde | 2,5 h (mg/l) | 11627 | 8442 | 8764 | 11326 | 9402 | 9335 | 9915 | 11952 | 12184 | |
| | 24 h (% Abw.) | 3,45 | 9,95 | 7,00 | 17,82 | 17,79 | 50,69 | 0,78 | 8,37 | 17,10 | |
| Biertreber | 2,5 h (mg/l) | 4147 | 3138 | 3599 | 3944 | 3937 | 5146 | 2081 | 4384 | 4038 | |
| | 24 h (% Abw.) | 10,50 | 2,57 | 7,89 | 7,47 | 13,18 | -10,41 | 17,79 | 12,87 | 29,12 | |
| Heu | 2,5 h (mg/l) | 8129 | 6927 | 8090 | 8086 | 8207 | 9488 | 8010 | 8783 | 8632 | |
| | 24 h (% Abw.) | 3,98 | -0,35 | 8,93 | 0,95 | 4,19 | -16,07 | 6,25 | 5,40 | 21,75 | |
| Holzspäne | 2,5 h (mg/l) | 588 | 544 | 559 | 533 | 585 | 1134 | 763 | 1070 | 1058 | |
| | 24 h (% Abw.) | 25,48 | 10,09 | 4,84 | 9,02 | 11,52 | 9,46 | 21,18 | 15,31 | 58,81 | |

Die höchste Freisetzung organischer Verbindungen konnte in Anwesenheit von Bleicherde festgestellt werden mit durchschnittlich 9531 mg/l (\pm 1020 mg/l) bzw. 95 mg/g TS im pH-Bereich pH 3,0 bis pH 8,0. Ein ähnlich starker DOC-Anstieg wurde nach Elution von Heu mit durchschnittlich 8135 mg/l (\pm 814 mg/l) bzw. 81 mg/g TS festgestellt. Silage und Biertreber setzten im beobachteten Zeitraum mit durchschnittlich 4160 mg/l (\pm 365 mg/l) bzw. 42 mg/g TS und 3641 mg/l (\pm 1013 mg/l) bzw. 36 mg/g TS deutlich weniger organische Verbindungen frei. Die niedrigste DOC-Konzentration wurde im Ansatz mit Holzspäne mit durchschnittlich 686 mg/l (\pm 235 mg/l) bzw. 7 mg/g TS gemessen. Für alle FSG galt, dass der größte Anteil der nach 24 Stunden eluierten organischen Verbindungen bereits nach 2,5 Stunden nachgewiesen werden konnte. Die Abweichungen vom ersten Messwert lagen bei durchschnittlich 17,34% (\pm 17,6%, pH 3,0 bis pH 8,0) für Bleicherde, 0,65% (\pm 8,87%) für Heu, 7,47% (\pm 6,60%) für Silage, 6,42% (\pm 9,76%) für Biertreber und 11,02% (\pm 5,46%) für Holzspäne. Bei der zeit-

abhängigen Elution konnten erhebliche Schwankungen festgestellt werden. Auch in Abhängigkeit des pH-Wertes wurden starke Schwankungen festgestellt, so dass nach 2,5 Stunden keine eindeutige pH-Abhängigkeit erkennbar wurde. Erst nach einer Elutionszeit von 24 Stunden wurde der vermutete Trend einer Steigerung der DOC-Freisetzung mit steigendem pH-Wert für alle FSG erkennbar.

3.2.3 Sulfatreduktion mit Eluaten der *Festen Substanzgemische* (FSG)

Bei Umsetzung der in Abschnitt 3.1 dargestellten Verfahrenskonzeption würde das gewählte FSG ohne weitere Vorbehandlung in Kontakt mit dem zu behandelnden Abwasser gebracht werden. Es musste also zunächst untersucht werden, inwieweit die eluierten organischen Verbindungen als Elektronendonator für mikrobielle Sulfat-reduktion geeignet sein würden.

In Abbildung 3.1 ist die Effizienz der Sulfatreduktion durch die sulfatreduzierende Mischkultur (MK I) und die Mischkultur aus einer Biogasanlage (MK II) dargestellt. Während für die FSG Heu, Bleicherde und Silage eine deutlichere Minderung mit der ursprünglich sulfatreduzierenden Mischkultur MK I erreicht wurde, war für die FSG Biertrieber und Holzspäne gegenteiliges festzustellen.

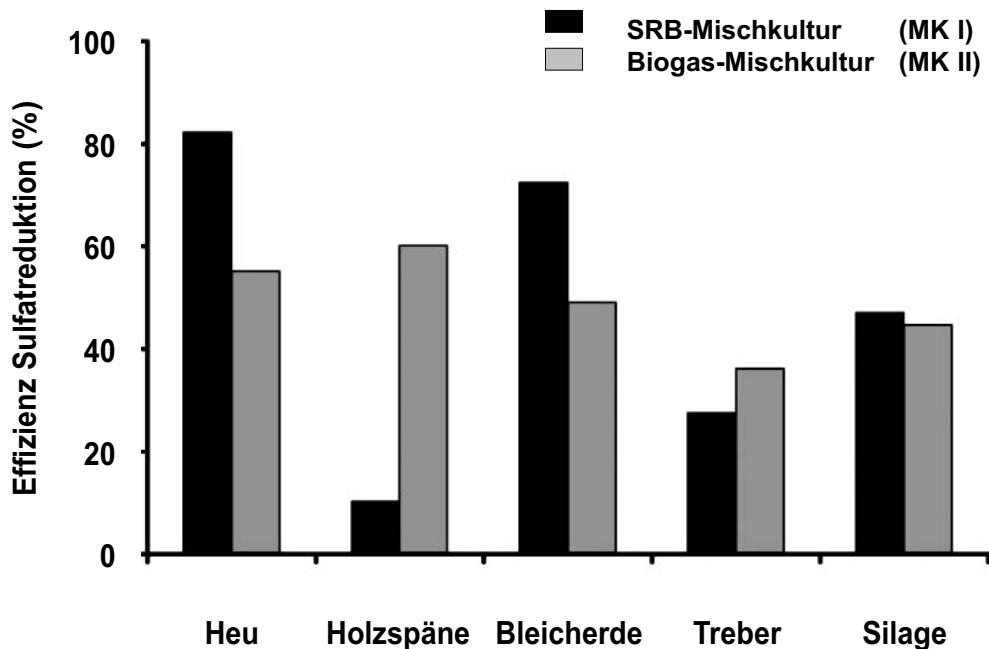


Abbildung 3.1:

Effizienz der Sulfatreduktion mit den Eluaten der FSG, MK I und MK II

(Kultivierung: 10 d, 30°C; Herstellung der Eluate: 100 g TS / 1,0 l Medium SRM; Elution 24 h, pH_{Start} 7, RT)

In Abbildung 3.2 ist als zweiter wichtiger Aspekt der Ausbeutekoeffizient der Sulfatreduktion bezogen auf den verbrauchten DOC sowie die absolute Minderung der Sulfatkonzentration dargestellt. Die höchste Ausbeute von 0,78 g Sulfat / g DOC konnte mit dem Eluat der Silage erreicht werden. Ebenfalls effizient wurde das Heu-Eluat mit 0,57 g Sulfat / g DOC umgesetzt. Das Eluat der Bleicherde wurde, trotz besserer Sulfatreduktion als beispielsweise für Silage, nur sehr ineffektiv zur Sulfatreduktion umgesetzt. Bei Verwendung von Bleicherde im verfahrenstechnischen Prozess war also mit konkurrierenden anaeroben Prozessen zu rechnen. Biertrieber konnte mit einem Ausbeutekoeffizienten von 0,35g Sulfat / g DOC bei schlechterer Sulfatreduktion als Bleicherde umgesetzt werden. Mit dem Eluat der Holzspäne konnte, obwohl der DOC-Umsatz effektiv war, nur eine sehr geringe Sulfatreduktion erreicht werden.

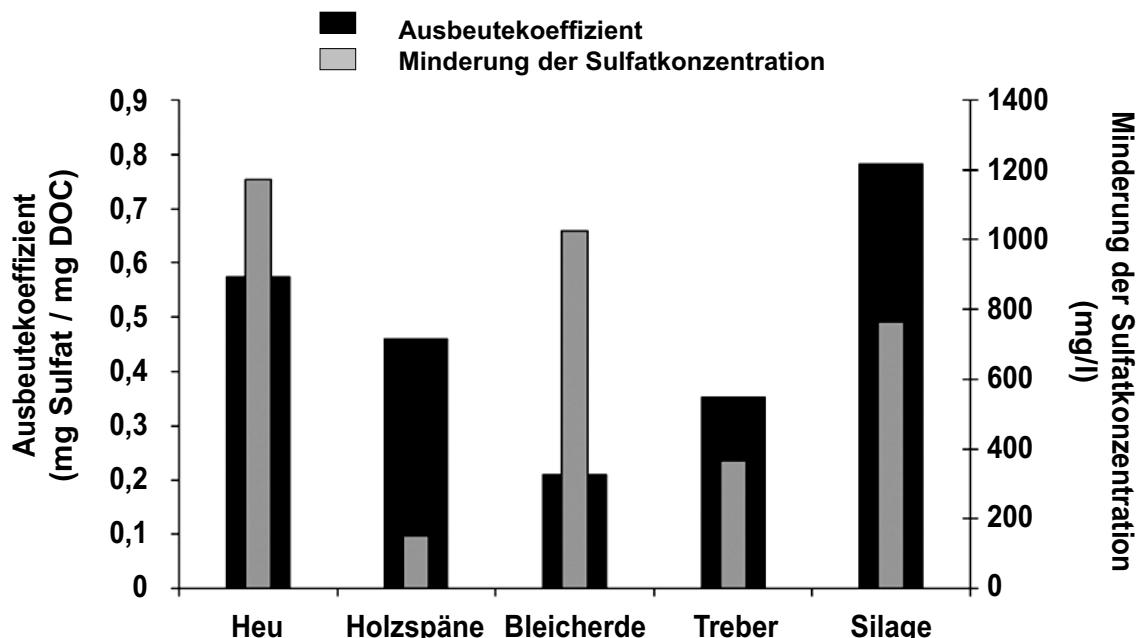


Abbildung 3.2:

Ausbeutekoeffizient und Minderung der Sulfatkonzentration mit den Eluaten der FSG, MK I (Kultivierung: 10 d, 30°C; Herstellung der Eluate: 100 g TS / 1,0 l Medium SRM; Elution: 24 h, pH_{Start} 7, RT)

3.2.4 Sulfatreduktion in Anwesenheit der *Festen Substanzgemische* (FSG)

Im nächsten Schritt wurden Untersuchungen zur Sulfatreduktion in Anwesenheit der FSG und somit zur Möglichkeit einer fortgesetzten Elution organischer Verbindungen aus dem FSG durchgeführt. Die Ergebnisse der Experimente mit den FSG Heu, Holzspäne, Bleicherde, Biertrieber und Silage sind in Abbildung 3.3 a-e dargestellt.

In Anwesenheit der FSG konnte für die Mischkultur MK I keine Sulfatreduktion mit Heu

und Holzspäne im Vergleich zu den Blindansätzen festgestellt werden. Die Effizienz der Sulfatreduktion mit Bleicherde und Biertreber betrug 50,55% und 42,79%. Hier konnte auch in den Blindansätzen eine geringfügige Sulfatreduktion festgestellt werden, was vermutlich auf die Aktivität einer autochthonen Mikroflora zurückzuführen war. Eine sehr hohe Effizienz der Sulfatreduktion von 78,28% konnte in Anwesenheit der Silage festgestellt werden. Als Erklärung für die hohe Effizienz konnte die erwartungsgemäß hohe Lactatkonzentration des FSG angesehen werden (Daten nicht dargestellt) [Jarvis et al. 1995].

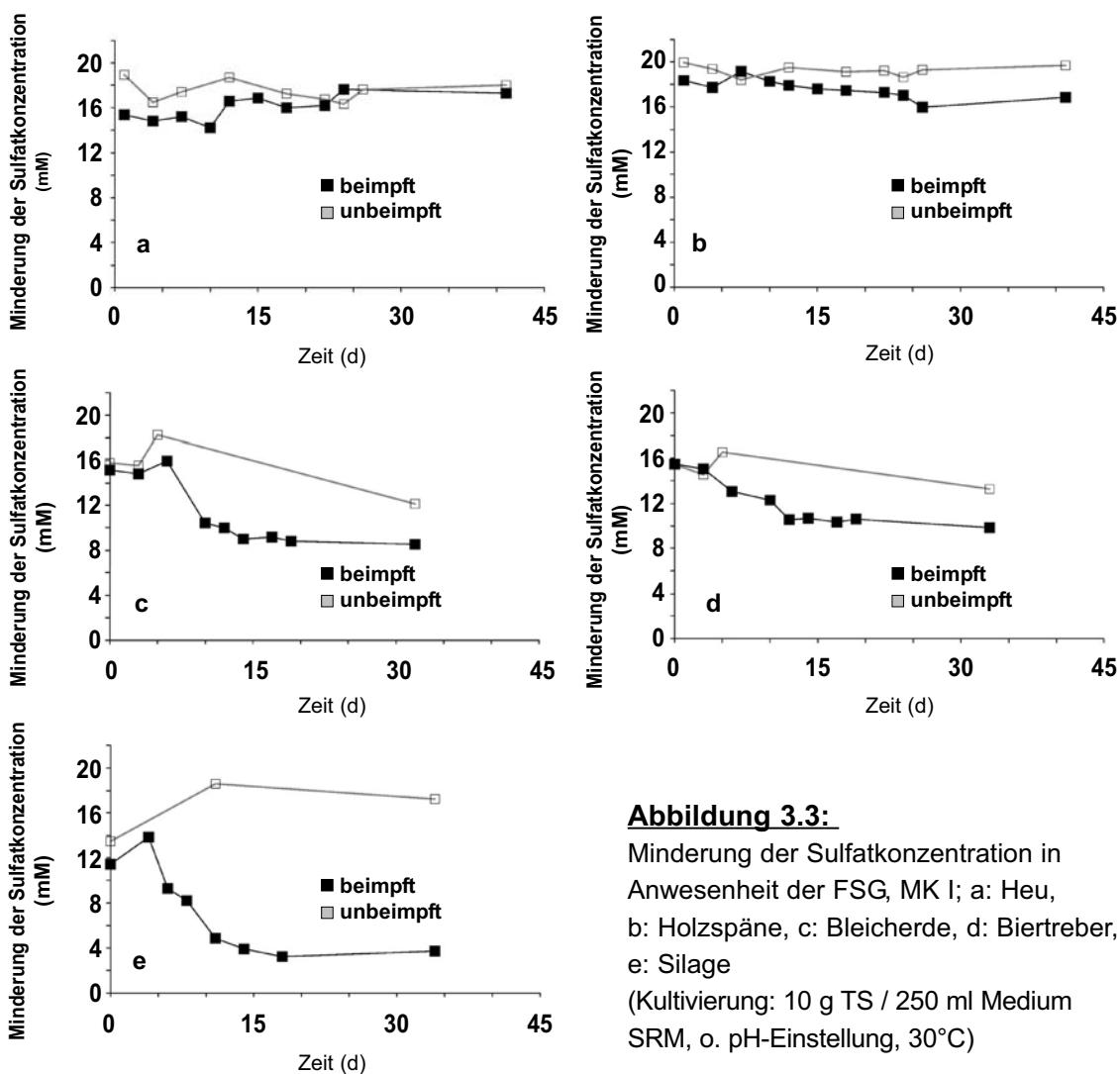


Abbildung 3.3:

Minderung der Sulfatkonzentration in Anwesenheit der FSG, MK I; a: Heu, b: Holzspäne, c: Bleicherde, d: Biertreber, e: Silage
(Kultivierung: 10 g TS / 250 ml Medium SRM, o. pH-Einstellung, 30°C)

Bei Untersuchung der DOC-Elution im Versuchszeitraum konnte festgestellt werden, dass infolge des Abbaus der Silage kontinuierlich lösliche organische Verbindungen freigesetzt wurden (nicht dargestellt). Entgegen dem zuvor betrachteten rein chemischen Elutionsprozess erschien die DOC-Freisetzung aus der Silage hier eher mikrobiologisch katalysiert. In Tabelle 3.2 ist dargestellt, dass tatsächlich besonders im Falle der Silage der DOC-Wert zum Abschluss des unbeimpften *Batch*-Versuchs

erheblich über dem im Elutionsversuch festgestellten Wert lag. Auch dieser direkte Vergleich spricht für den Stellenwert einer mikrobiellen Katalyse.

Tabelle 3.2:

Konzentrationen DOC, *Batch*-Versuche (Kultivierung: 30 d, 10 g TS / 250 ml Medium SRM, ohne pH-Einstellung, RT) im Vergleich mit den Werten aus Elutionsversuchen (Elution: 24 h, 35 g TS / 350 ml Medium SRM bei vergleichbarem pH zu *Batch*-Versuchen).

| FSG | DOC <i>Batch</i> -Versuch (unbeimpft) (mg/g TS) | DOC Elutionsversuch (mg/g TS) |
|------------|--|-------------------------------------|
| Silage | 104,9 | 43,6 (pH 5) |
| Bleicherde | 131,5 | 133,5 (pH 5) |
| Biertreber | 55,2 | 44,6 (pH 6) |
| Heu | 88,0 | 88,1 (pH 4) |
| Holzspäne | 9,9 | 5,8 (pH 5) |

Tabelle 3.3:

pH-Wert und Minderung der Sulfatkonzentration, *Batch*-Versuche (Kultivierung: 30 d, 10 g TS / 250 ml Medium SRM, o. pH-Einstellung, 30°C)

| FSG | | pH | Minderung der Sulfatkonzentration (mM) |
|------------|-----------|------|--|
| Silage | beimpft | 5,31 | 10,10 |
| | unbeimpft | 4,54 | 1,40 |
| Bleicherde | beimpft | 5,15 | 7,40 |
| | unbeimpft | 5,15 | 6,10 |
| Biertreber | beimpft | 5,91 | 5,60 |
| | unbeimpft | 6,05 | 3,30 |
| Heu | beimpft | 4,14 | 0,00 |
| | unbeimpft | 3,94 | 0,90 |
| Holzspäne | beimpft | 6,27 | 2,30 |
| | unbeimpft | 5,20 | 0,30 |

Das Ausbleiben der Sulfatreduktion besonders in Anwesenheit von Heu überraschte zunächst im Vergleich zur hohen Effizienz mit dem Eluat (vgl. Abbildung 3.1). Nicht zu vernachlässigen war jedoch, dass in Anwesenheit des FSG der pH-Wert in den Ansätzen ohne starke Pufferung nicht zu stabilisieren war (Tabelle 3.3). So waren Sulfatreduktion und Acidogenese als gegenläufige Prozesse in Versuchsansätzen dieser Art zu sehen.

3.2.5 Verhalten der *Festen Substanzgemische* (FSG) in Anwesenheit von Schwermetallionen

Elution von organischen Verbindungen in Abhängigkeit von Schwermetallkonzentration und pH-Wert

Ziel der Untersuchungen war es, festzustellen, inwieweit durch steigende Metallkonzentrationen sich die Konzentrationen an eluierbaren organischen Verbindungen änderten. Tabelle 3.4 zeigt die gemessenen DOC-Konzentrationen im Bereich pH 2 bis pH 7 nach einer Elutionszeit von 2,5 Stunden für die FSG Bleicherde, Bierterber, Heu, Holzspäne und Silage. Bezogen auf diese Konzentrationen sind die prozentualen Abweichungen von diesem Ausgangswert bei vergleichbaren Ansätzen mit *Synthetischen Abwässern* (Medium SRM_{SM I} bzw. Medium SRM_{SM II}) dargestellt. Es muss beachtet werden, dass die Ergebnisse durch unterschiedliche Experimente gewonnen wurden. Während in der ersten Versuchsreihe für jeden einzeln untersuchten pH-Wert ein Ansatz mit frischem Medium und frischem FSG eingesetzt wurde, sind in der Versuchsreihe mit erhöhten Schwermetallkonzentrationen für jedes FSG und jede Schwermetallkonzentration lediglich zwei Ansätze eingesetzt worden. Der erste Ansatz wurde jeweils zunächst auf pH 2 eingestellt. Nach einem Zeitraum von 180 Minuten wurde auf pH 3 erhöht und weitere 180 Minuten später auf pH 4. Eine entsprechende Prozedur folgte für die pH-Werte 5 bis 7. Diese Vorgehensweise ließ begrenzte Abweichungen im Elutionsverhalten der FSG erwarten.

Aus Tabelle 3.4 wird deutlich, dass in einem geringfügigen Rahmen Veränderungen der gemessenen DOC-Konzentrationen durch erhöhte Schwermetallkonzentrationen festgestellt wurden. Es wurden für die FSG Bleicherde, Bierterber, Heu und Holzspäne bei verschiedenen pH-Werten sowohl Erhöhungen der Konzentrationen als auch Konzentrationssenkungen festgestellt. Ein eindeutiger Trend war im Falle dieser FSG nicht ersichtlich. Ein abweichendes Verhalten zeigte hier die Silage. Für alle pH-Werte und für beide *Synthetische Abwässer* wurde eindeutig eine höhere Konzentration gelöster organischer Verbindungen festgestellt.

Verhalten der *Festen Substanzgemische* gegenüber Schwermetallionen

Es galt zu untersuchen, inwieweit ein im technischen Rahmen eingesetztes FSG die Fähigkeit besaß, gelöste Schwermetalle zu sorbieren. Der in anderen

Abwasserreinigungsverfahren zur Schwermetalleliminierung gewünschte Effekt der Biosorption war im Rahmen des geplanten Verfahrens als nachteilig einzustufen, da eine kostengünstige Entsorgung des verbrauchten FSG anzustreben war. Eine starke Kontamination durch sorbierte Schwermetalle könnte eine kostenintensivere Entsorgung als Sonderabfall notwendig machen bzw. eine möglicherweise aufwendige Aufbereitung des verbrauchten FSG im Rahmen einer Schwermetalldesorption verlangen.

Tabelle 3.4:

DOC-Elution in Abhängigkeit des pH-Wertes und der Schwermetallkonzentration
(Elution: 2,5 h, 35 g TS / 350 ml Medium SRM bzw. 40 g TS / 400 ml SRM_{SMI}, SRM_{SMII}, RT, aerob)

| FSG | | pH-Wert | | | | | |
|------------|-------------------|--------------|-------------|-------------|--------------|-------------|-------------|
| | | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Silage | 2,5 h (mg/l) | 4265 | 4743 | 4040 | 4272 | 4399 | 4383 |
| | SM I (% Abw.) | 33,00 | 31,69 | 16,63 | 29,54 | 32,15 | 48,40 |
| | SM II (% Abw.) | 20,28 | 24,50 | 10,38 | 23,53 | 23,36 | 35,56 |
| Bleicherde | 2,5 h (mg/l) | 11627 | 8442 | 8764 | 11326 | 9402 | 9335 |
| | SM I (% Abw.) | -0,67 | 34,43 | 23,16 | -11,36 | 15,01 | 13,42 |
| | SM II (% Abw.) | -6,82 | 28,63 | 21,71 | -7,98 | -0,16 | -3,59 |
| Biertreber | 2,5 h (mg/l) | 4147 | 3138 | 3599 | 3944 | 3937 | 5146 |
| | SM I (% Abw.) | -6,90 | 26,54 | 9,21 | -12,37 | -9,10 | -30,88 |
| | SM II (% Abw.) | -19,30 | 6,27 | -6,13 | -15,04 | -15,09 | -32,58 |
| Heu | 2,5 h (mg/l) | 8129 | 6927 | 8090 | 8086 | 8207 | 9488 |
| | SM I (% Abw.) | -15,95 | 3,39 | -11,01 | -12,39 | -13,46 | -25,37 |
| | SM II (% Abw.) | -13,87 | -0,55 | -11,97 | -14,81 | -17,06 | -27,42 |
| Holzspäne | 2,5 h (mg/l) | 588 | 544 | 559 | 533 | 585 | 1134 |
| | SM I (% Abw.) | -0,93 | 7,55 | 4,57 | 16,18 | 11,19 | -38,03 |
| | SM II (% Abw.) | -11,35 | -0,52 | -2,04 | 12,47 | -14,70 | -52,98 |

Tabelle 3.5 gibt einen Überblick über die Kapazität der einzelnen FSG zur Schwermetallsorption bei Elution mit Medium SRM_{SMI} bzw. SRM_{SMII}.

Bei Durchführung der Experimente wurde ein Ansatz ohne Zugabe eines FSG als Blindansatz mitgeführt. Durch die pH-Anhebung wurde infolge von Fällung bereits ein hoher Anteil der gelösten Schwermetalle in eine unlösliche Form überführt und somit aus der Lösung entfernt. Dieser Anteil wäre im technischen Prozess irrelevant, da er sich im Zustrom der Anlage entfernen ließe. Alle Ergebnisse zur Sorption von Schwermetallen an den untersuchten FSG mussten also in Relation zu den im Blindversuch beim jeweiligen pH-Wert noch gelösten Konzentrationen an Metallionen gesehen werden. Tabelle 3.5 gibt dementsprechend die Änderung der Schwermetallkonzentration bezogen auf den Blindwert an. Die Darstellung in Tabelle 3.5 ist so gewählt, dass eine Konzentrationsminderung in Anwesenheit eines FSG als positiver Wert (Sorption) angegeben ist. In den Fällen, in denen es zu einer Sorption, bzw. allgemeiner, einer Minderung der Konzentration kam, wurde dies auch als Sorption einer Masse eines Metalls bezogen auf das Trockengewicht des FSG dargestellt. In den übrigen Fällen, in denen zuvor gefällte Schwermetallionen remobilisiert wurden, wurde lediglich die jeweilige Konzentration angegeben.

Eine Remobilisierung von Metallionen wurde im Rahmen dieser Untersuchung nicht als nachteilig angesehen, da das in diesem Versuch vorhandene gefällte schwermetallhaltige Sediment für den technischen Prozess nicht relevant war. Als zweite Möglichkeit musste jedoch auch eine Mobilisierung von Metall-, bzw. Schwermetallionen aus den FSG in Betracht gezogen werden. So ist Bleicherde beispielsweise ein technisches Produkt, das zunächst in der Fettraffination eingesetzt wird, um Kontaminationen aus dem Produktstrom zu entfernen. Hierzu zählen in diesem Fall auch Schwermetalle. Auch diese Möglichkeit stellte jedoch zu diesem Zeitpunkt der Untersuchungen keinen erkennbaren prozesstechnischen Nachteil dar.

Bei Betrachtung der angegeben Konzentrationen in Tabelle 3.5 wird zunächst deutlich, dass für die überwiegende Anzahl an Metallen bzw. Schwermetallen eher eine Tendenz zur Remobilisation oder Mobilisation als zur Sorption an Oberflächen bestand. Insbesondere auf Seiten der Alkalimetalle trat in nahezu allen Fällen eine Erhöhung der Konzentration ein. Auch für Aluminium, Arsen, Chrom und Blei kam es zumindest bei niedrigen Metallkonzentrationen zur Konzentrationserhöhung. Chrom wurde in Anwesenheit aller FSG außer Silage bei Vorlage hoher Konzentrationen geringfügig sorbiert. Aluminium wurde in allen Fällen bei Vorlage hoher Konzentrationen sorbiert.

In allen Fällen wurden die Schwermetalle Kupfer, Nickel und Zink in Anwesenheit der unterschiedlichen FSG zu einem bestimmten Anteil aus der Lösung entfernt. Die geringste Kapazität zur Sorption wurde für Silage und Holzspäne festgestellt. Auffällig für Silage war, dass bezogen auf Nickel und Zink die Sorptionskapazität bereits in Anwesenheit niedriger Konzentrationen erschöpft zu sein schien. Lediglich die Masse sorbierten Kupfers konnte mit Erhöhung der Metallkonzentration von 1,4 auf 4,1 mg/g TS erhöht werden. Für Nickel und Zink lagen die ermittelten sorbierten Massen unterhalb von 1 mg/g TS.

Tabelle 3.5:
Veränderung der Schwermetallkonzentration im Medium SRM_{SMI} / SRM_{SMII} und Schwermetallsorptionskapazität der FSG
(Elution 2,5 h, pH 4,0, 40 g TS / 400 ml Medium SRM, RT, aerob)

| | Blind | | Bleicherde | | | | Silage | | | | Biertreber | | | | Holzspäne | | | | Heu | | | | | |
|-----------|-------|-------|---------------------|-------|----------------------------|-------------|--------------------|------------|---------------------|------------|--------------------|-------------|---------------------|------------|----------------------------|-------------|--------------------|------------|---------------------|------------|----------------------------|------------|--------------------|--|
| | | | c_{Metall} (mg/l) | | Δc_{Metall} (mg/l) | | Sorption (mg/g TS) | | c_{Metall} (mg/l) | | Sorption (mg/g TS) | | c_{Metall} (mg/l) | | Δc_{Metall} (mg/l) | | Sorption (mg/g TS) | | c_{Metall} (mg/l) | | Δc_{Metall} (mg/l) | | Sorption (mg/g TS) | |
| | SM I | SM II | SM I | SM II | SM I | SM II | SM I | SM II | SM I | SM II | SM I | SM II | SM I | SM II | SM I | SM II | SM I | SM II | SM I | SM II | SM I | SM II | | |
| Al | 0,0 | 55,6 | -4,3 | 53,8 | 3,4 | -11,6 | 9,2 | 0,6 | 0,0 | 55,6 | 3,5 | / | 0,9 | / | 0,1 | -14,1 | 25,3 | | 1,6 | | | | | |
| As | 23,0 | 1,5 | -28,1 | -107 | | -27,2 | -77,8 | | -31,3 | -68,6 | | / | -3,1 | / | | -31,9 | -85,0 | | | | | | | |
| Ca | 297 | 395 | -873 | -605 | | -450 | -406 | | -684 | -593 | | / | -93,9 | / | | -476 | -499 | | | | | | | |
| Cr | 28,1 | 173 | -4,8 | 67,9 | 4,2 | -8,6 | -15,8 | | -1,9 | 88 | 5,5 | / | 22,2 | / | 1,4 | -13,7 | 35,0 | | 2,2 | | | | | |
| Cu | 57,9 | 323 | 40,8 | 235 | 2,6 | 14,7 | 21,1 | 1,3 | 4,1 | 40,4 | 2,10 | 2,5 | 13,2 | / | 47,7 | / | 3,0 | 26,1 | 179 | 1,6 | 11,2 | | | |
| Fe | 38,6 | 2,5 | 23,5 | -1,5 | 1,5 | | -21,2 | -37,2 | | 36,8 | 2,0 | 2,3 | 0,1 | / | -6,1 | / | | -38,7 | -60,9 | | | | | |
| K | 262 | 707 | -1038 | -957 | | -810 | -858 | | -41,6 | 7,6 | 0,5 | / | -33,4 | / | | | | -2356 | -2453 | | | | | |
| Mg | 235 | 291 | -472 | -347 | | -107 | -108 | | -223 | -219 | | / | -12,9 | / | | | | -94,1 | -83,3 | | | | | |
| Mn | 57,7 | 247 | 13,1 | 78,1 | 0,8 | 4,9 | 4,1 | -5,4 | 0,3 | 12,6 | 22,8 | 0,8 | 1,4 | / | -17,5 | / | | -0,4 | 18,9 | | 1,2 | | | |
| Na | 1179 | 2205 | -711 | -239 | | -997 | 213 | | 13,3 | -352 | 199 | 12,4 | / | 167,5 | / | 10,5 | 581 | -37,5 | 36,6 | | | | | |
| Ni | 70,3 | 308 | 21,7 | 73,6 | 1,4 | 4,6 | 12,5 | 8,8 | 0,8 | 0,5 | 17,2 | 29,1 | 1,1 | 1,8 | / | 6,6 | / | 0,4 | 13,0 | 64,0 | 0,8 | 4,0 | | |
| Pb | 0,0 | 0,3 | 0,0 | -0,9 | | -2,0 | -4,5 | | 0,0 | -0,6 | | / | -3,2 | / | | 0,0 | -13,3 | | | | | | | |
| Zn | 82,2 | 332 | 42,1 | 216 | 2,6 | 13,5 | 10,3 | 8,3 | 0,6 | 0,5 | 37,0 | 83,5 | 2,3 | 5,2 | / | 9,0 | / | 0,6 | 20,9 | 92,3 | 1,3 | 5,8 | | |

3.3 Behandlung der Wässer im einstufigen Reaktorsystem

Es wurden im Anschluss Untersuchungen unter Berücksichtigung technischer Aspekte durchgeführt. Die FSG Silage, Bleicherde und Biertreber wurden aufgrund der positiven Ergebnisse in Abschnitt 3.2 als prinzipiell geeignet für das technische Projekt eingestuft.

Die Reaktionszonen R_1 und R_2 mussten technisch insofern voneinander getrennt sein, dass beide Bereiche bei einer technischen Umsetzung für Eingriffe zugänglich waren. Das hieß insbesonders, dass es möglich sein musste, das verbrauchte FSG ohne Störung von R_2 auszutauschen. Die einfachste technische Umsetzung dieses Anspruches war ein einstufiger Reaktoraufbau mit einer einfachen Schichtung der Reaktionszonen. Ein solcher Aufbau wurde für die oben genannten FSG in Säulenversuchen realisiert. Bei dieser einfachen Umsetzung des Konzeptes war jedoch zu vermuten, dass das in Abschnitt 3.1 indirekt formulierte Ziel der Trennung von *Aktiver Elution* und Sulfat-reduktion nicht vollständig erreicht werden konnte.

Abbildung 3.4 zeigt die im Ablauf der Säulen gemessenen Sulfatkonzentrationen. Die Darstellung beginnt am vierten Tag, weil erst hier ein durchgängig kontinuierlicher Betrieb möglich war. Zusätzlich sind die verschiedenen Verweilzeiten, mit denen die Säulen betrieben wurden, und die pH-Werte des Ablaufes an drei unterschiedlichen Tagen eingezeichnet.

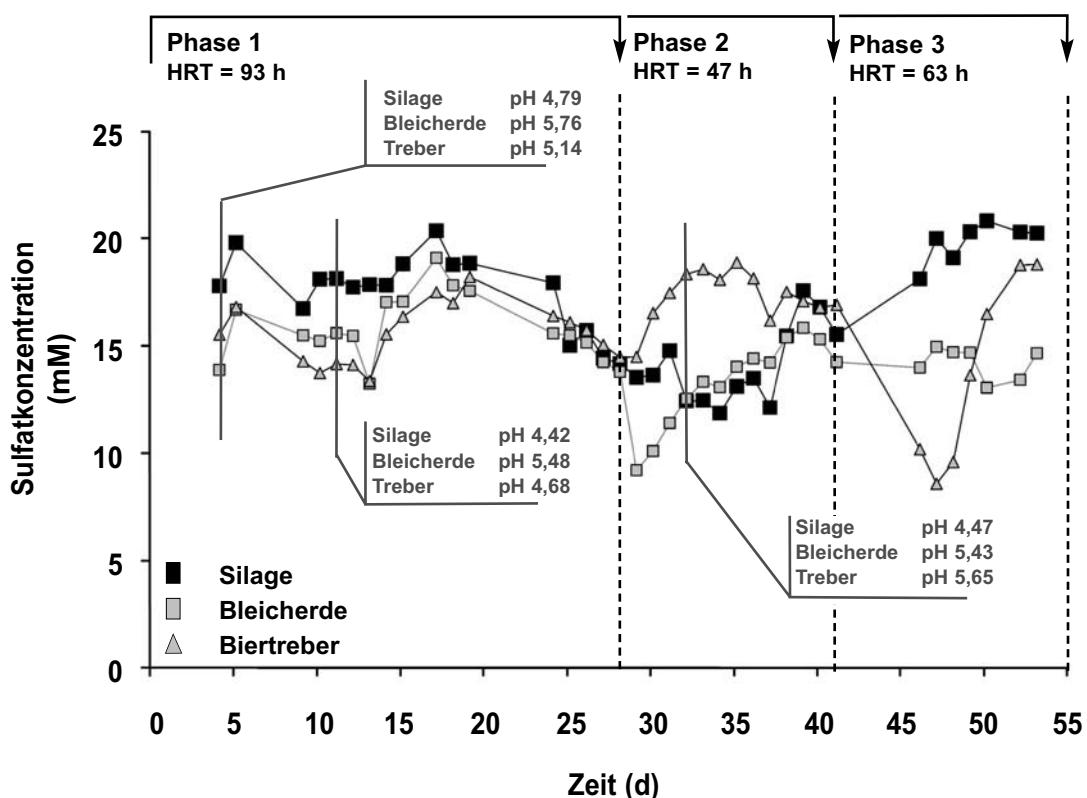


Abbildung 3.4:

Sulfatkonzentration im einstufigen Reaktorsystem, Probenahme im Ablauf
($V_L = 600 \text{ ml}$, 60 g TS, o. pH-Regelung, RT)

Aus den *Batch*-Versuchen war hervorgegangen, dass mit dem aus Silage eluierten DOC als Kohlenstoff- und Energiequelle die effizienteste Sulfatreduktion im Vergleich zu den anderen getesteten FSG möglich war (vgl. Abbildung 3.1). Beim Einsatz der Silage im kontinuierlichen Säulenversuch zeigten aber die gemessenen Sulfatkonzentrationen im Ablauf bis zum 24. Tag, bei einer Verweilzeit von 93 Stunden, keine nennenswerte Minderung im Vergleich zur Zulaufkonzentration. Erst nach dem 24. Tag setzte für mehr als zwei Wochen erkennbare Sulfatreduktion ein, so dass die Konzentrationen im Ablauf unter 15 mM lagen. Danach stiegen die Konzentrationen wieder an und erreichten die Werte des Zulaufs.

Bei der mit Bleicherde gefüllten Säule waren die Sulfatkonzentrationen schon zu Beginn des Versuches gegenüber den Konzentrationen im Medium reduziert und betrugen maximal 15 mM. Beginnend mit dem 13. Versuchstag stiegen sie über einen Zeitraum von zehn Tagen an, sanken dann wieder und stiegen bis zum Versuchsende nicht noch einmal wesentlich über 15 mM. Auch die Säule, in der Biertreber eingesetzt wurde, wies am Anfang im Ablauf Sulfatkonzentrationen mit durchschnittlich 15 mM auf und die Werte verhielten sich bis zum 28. Versuchstag ähnlich denen im Ablauf der Säule mit Bleicherde. Mit Verringerung der Verweilzeit stiegen dann die Sulfatkonzentrationen in der Säule mit Biertreber wieder an und sanken erst wieder erkennbar bei der Erhöhung der Verweilzeit am 41. Versuchstag. Vor Abbruch des Versuches näherten sich die Konzentrationen dann den Ausgangskonzentrationen im Medium an.

Auffällig im Versuchsverlauf war, dass in allen Versuchsansätzen im gesamten Versuchszeitraum signifikante Konzentrationen an DOC zur Verfügung standen. Tabelle 3.6 zeigt die mittleren gemessenen DOC-Konzentrationen im Ablauf der einzelnen Reaktoren.

Tabelle 3.6:

Mittelwert DOC-Konzentration im einstufigen Reaktorsystem (Phase 1 und Phase 2)

| FSG | Silage | Bleicherde | Biertreber |
|-----------|-----------|------------|------------|
| \bar{x} | 1680 mg/l | 996 mg/l | 1366 mg/l |

Die unzureichende Sulfatreduktionsleistung schien aus diesen Gründen nicht in erster Linie auf fehlenden Elektronendonator zurückzuführen zu sein. Hingegen konnte eine Erklärung für den Prozessverlauf in den extrem niedrigen pH-Werten gesehen werden. Die ermittelten pH-Werte lagen in allen Versuchsansätzen in potenziell inhibierenden Bereichen. Die starke Versauerung des Mediums erschien als deutliches Argument gegen den einstufigen Reaktoraufbau, da in den Festbettreaktoren zunächst keine technisch einfach zu realisierende Möglichkeit zur pH-Regelung bestand und in dieser Phase der Verfahrensentwicklung das Ziel eines weitgehend *Passiven Prozesses* nicht aufgegeben werden sollte.

Keines der FSG konnte zu diesem Zeitpunkt prinzipiell als ungeeignet im Rahmen der Verfahrenskonzeptes angesehen werden. Jedoch musste beim möglichen Einsatz von Bleicherde im technischen Prozess mit Problemen gerechnet werden. Zum einen zeigte sich für dieses FSG eine Verblockungsgefahr, die möglicherweise bei längerem kontinuierlichen Betrieb zum Prozessversagen führen konnte. Zum anderen konnte in einstufigen kontinuierlichen Fermenterversuchen mit zuvor gewonnenen Eluaten eine starke Tendenz zur Schaumbildung festgestellt werden (Daten nicht dargestellt). Da es sich hierbei jedoch um N_2 -begaste und durchmischte Reaktoren handelte, mag diese Tendenz für die Prozessgestaltung irrelevant gewesen sein. Die einstufigen Versuche ließen ebenso keine eindeutige Favorisierung eines der FSG zu. Es wurde jedoch gezeigt, dass in Anwesenheit jedes einzelnen Substanzgemisches prinzipiell mikrobielle Sulfatreduktion ermöglicht wurde. Das höchste Potenzial zur DOC-Freisetzung im einstufigen Prozess zeigte die Silage, für die auf der anderen Seite keine Probleme hinsichtlich Handbarkeit oder Einsetzbarkeit im technischen Prozess zu erkennen waren.

In Verbindung zu den positiven Ergebnissen in den *Batch*-Versuchen im vorhergehenden Versuchsstadium (Abschnitt 3.2), konnte Silage in einem technischen Prozess als das vielversprechendste FSG eingestuft werden. Im weiteren Verlauf der Verfahrensentwicklung wurde deshalb ausschließlich mit Silage gearbeitet.

3.4 Behandlung der Wässer im zweistufigen Reaktorsystem

3.4.1 Vorgehensweise

Es konnte in Abschnitt 3.3 gezeigt werden, dass eine bloße Schichtung der Reaktionszonen ohne tatsächliche Trennung in separate Reaktionsräume nicht ausreichend war für einen stabilen Prozessverlauf. Es wurde im nächsten Schritt der bisher einstufige Prozess als zweistufiger Prozess konzipiert und die Stufe R_1 (Festbettreaktor) reaktortechnisch von R_2 (Rührreaktor) getrennt. Durch diese Maßnahmen sollte eine Trennung und Optimierung der beiden Reaktionsstufen einerseits hinsichtlich *Aktiver Elution* (R_1) und andererseits hinsichtlich Sulfatreduktion (R_2) ermöglicht werden. Mögliche negative Einflüsse auf die Prozesse in den beiden Stufen, die Gegenstand der Untersuchung waren, sind in Tabelle 3.7 angeführt.

Tabelle 3.7:
Potenziell inhibierende Einflüsse

| R_1 | R_2 |
|-------------------------|-------------------------|
| Schwermetallinhibierung | Schwermetallinhibierung |
| pH-Inhibierung | pH-Inhibierung |
| H_2S -Inhibierung | H_2S -Inhibierung |
| H_2 -Inhibierung | |

3.4.2 Optimierung von R_2

Zur Optimierung von R_2 wurde zur Vermeidung möglicher negativer Effekte durch steigende H_2S -Konzentrationen eine kontinuierliche N_2 -Begasung zur H_2S -Strippung installiert. Um negative Effekte durch steigende Protonenkonzentrationen und eine Versauerung von R_2 in der Anfangsphase der kontinuierlichen Versuche zu verhindern, wurde der pH-Wert in den jeweiligen Versuchen in dieser Stufe zunächst auf pH 7,0 geregelt. Es konnte dabei durch alleinige Optimierung von R_2 keine ausreichende Verbesserung des Prozessverlaufes erreicht werden (Daten nicht dargestellt).

3.4.3 Optimierung von R_1

Mit dem Anspruch der Gestaltung eines weitgehend *Passiven Verfahrens* waren die Möglichkeiten einer technischen Optimierung von R_1 (Festbettreaktor) prinzipiell eingeschränkt. Jeder technische Eingriff musste mit möglichst geringem Aufwand realisierbar sein und ohne hohen regelungstechnischen Aufwand eine Stabilisierung der nötigen mikrobiellen Prozesse in R_1 ermöglichen. Es sollten zunächst folgende Eingriffe in R_1 untersucht werden:

| |
|--------------------------|
| Änderung der Elutionsart |
| pH-Regelung |
| Begasung (N_2, O_2) |

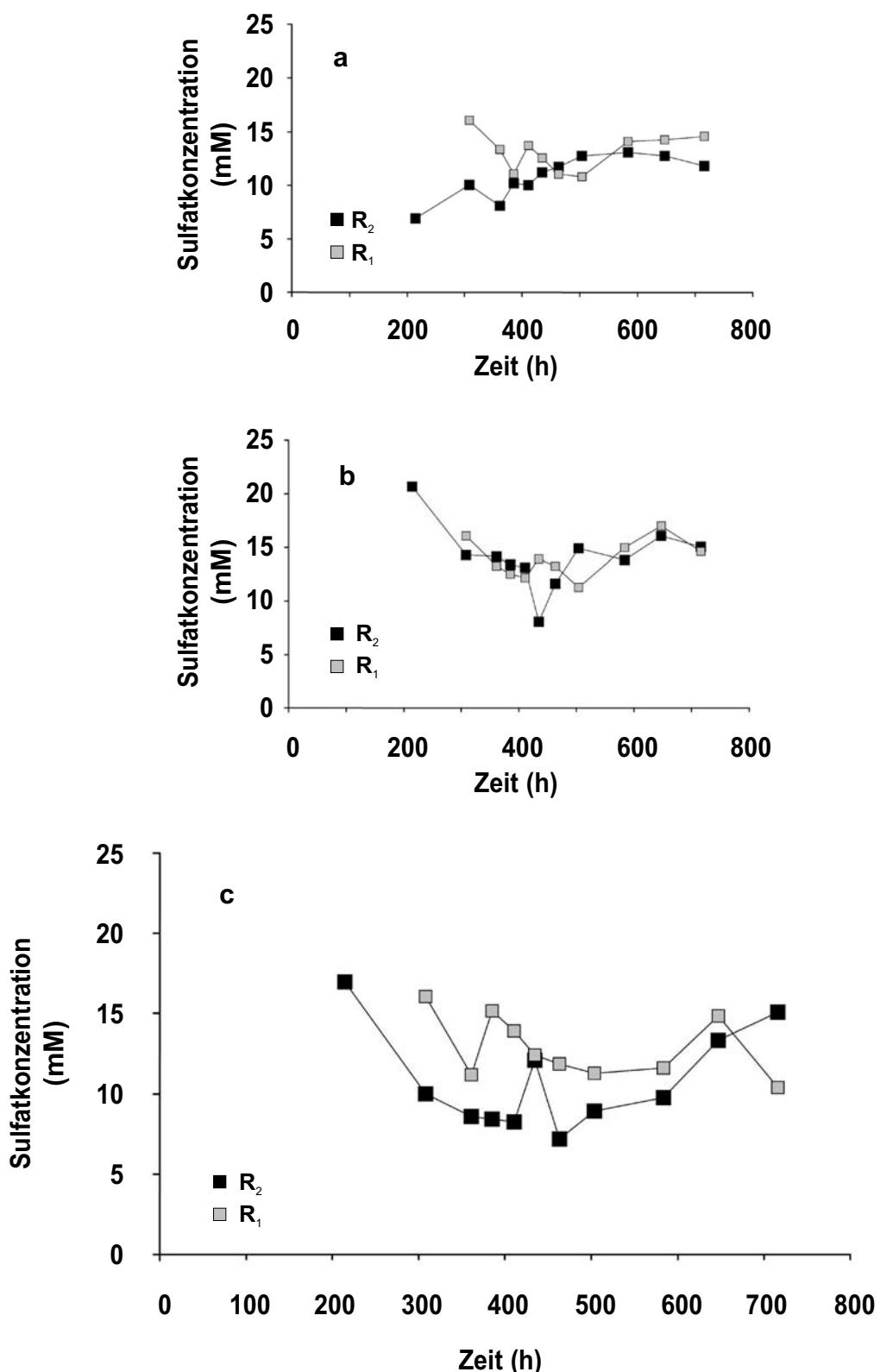
3.4.3.1 Änderung der Elutionsart

Zur Untersuchung der Elutionsart wurden drei unterschiedliche Versuchsaufbauten gewählt und parallel betrieben. Verglichen wurden dabei drei Elutionsstrategien:

- a) **Batch-Elution**
- b) **Kontinuierliche Elution**
- c) **Kontinuierliche Elution mit Umlauf**

Dabei wurde bei der *Batch-Elution* im Gegensatz zu den beiden anderen Möglichkeiten das Medium nur diskontinuierlich für einen Zeitraum von drei Tagen mit dem FSG in Kontakt gebracht. Die Installation eines zusätzlichen Umlaufs in Versuch c zielte vorrangig auf eine Veränderung der stationären Kontaktzeit zwischen Flüssigphase und Feststoff an der Phasengrenzfläche.

In Abbildung 3.5 sind die Konzentrationsverläufe für Sulfat in den Reaktionsstufen R_1 und R_2 für die Versuche a bis c dargestellt.

**Abbildung 3.5:**

Sulfatkonzentration im zweistufigen Reaktorsystem, Ablauf R₁ und R₂, Veränderung der Elutionsart in R₁, a: *Batch*-Elution, b: Kontinuierliche Elution, c: Kontinuierliche Elution mit Umlauf

(R₁: HRT = 77,52 h, 35 g TS Silage, o. pH-Regelung, RT;

R₂: HRT = 45,22 h, pH 7, 25°C, 100 U/min, 0,1 l/min N₂)

In allen Versuchen konnte mit Silage in R_1 eine Sulfatreduktion im zweiphasigen System erreicht werden. Die Effizienz bezogen auf die Zulaufkonzentrationen belief sich für Versuch a (Batch-Elution) auf durchschnittlich 37,4%, für Versuch b (Kontinuierliche Elution) auf 18,0% und für Versuch c (Kontinuierliche Elution mit Umlauf) auf 37,3% (Daten nicht dargestellt). Anhand der Reaktionsverläufe in Abbildung 3.5 wird jedoch deutlich, dass sich die Sulfatkonzentrationen für die beiden jeweils separaten Reaktionsstufen nicht wesentlich unterschieden und somit die festgestellte Konzentrationsabnahme bereits in R_1 stattfand. Abweichend von den Versuchen a und b konnte nur in Versuch c eine weitere Senkung der Sulfatkonzentration in R_2 im Vergleich zu R_1 erreicht werden. Jedoch galt auch hier, dass die Ausbeuten zum einen nicht stabil waren und zum anderen eine tatsächliche Trennung der beiden Stufen nicht erreicht werden konnte. Während im frühen Versuchsstadium der prozentual höhere Anteil zur Minderung der Sulfatkonzentration in R_2 erreicht wurde, trat im zeitlichen Verlauf eine Änderung der Verhältnisse ein, so dass Sulfatreduktion hauptsächlich in R_1 stattfand.

Festzustellen galt es, aus welchen Gründen es zum abweichenden Versuchsverlauf in Versuch c gegenüber Versuch a und b kam und welche potenziellen Möglichkeiten zur Prozessstabilisierung sich daraus ergaben.

Bei Untersuchung des Spektrums an VFA, die aus dem Überstand in R_1 kontinuierlich R_2 zugeführt wurden zeigten sich deutliche Unterschiede einerseits bezogen auf die Anteile der einzelnen Säuren, zum anderen bezogen auf die durchschnittliche Gesamtkonzentration an VFA (siehe Tabelle 3.8)¹⁵.

Tabelle 3.8:

VFA-Konzentrationen in R_1 im zweistufigen Reaktorsystem, Veränderung der Elutionsart in R_1 , a: *Batch-Elution*; b: Kontinuierliche Elution, c: Kontinuierliche Elution mit Umlauf (R_1 : HRT 77,52 h, 35 g TS Silage, o. pH-Regelung, RT; R_2 : HRT 45,22 h, pH 7, 25°C, 100 U/min, 0,1 l/min N_2)

| | Versuch a | | | Versuch b | | | Versuch c | | |
|-------------------|-------------------|------------------|---------------|-------------------|------------------|---------------|-------------------|------------------|---------------|
| | \bar{x} (mM) | σ (mM) | Anteil (%) | \bar{x} (mM) | σ (mM) | Anteil (%) | \bar{x} (mM) | σ (mM) | Anteil (%) |
| Acetat | 15,77 | 5,75 | 68,47 | 13,79 | 6,22 | 62,05 | 27,66 | 5,70 | 78,25 |
| Propionat | 3,70 | 1,68 | 16,07 | 5,60 | 4,09 | 25,20 | 5,78 | 2,88 | 16,35 |
| Butyrat | 2,50 | 1,13 | 10,85 | 2,15 | 0,75 | 9,69 | 1,71 | 0,61 | 4,84 |
| Isobutyrat | 0,06 | 0,05 | 0,25 | 0,06 | 0,05 | 0,27 | 0,03 | 0,03 | 0,09 |
| Valerat | 0,47 | 0,32 | 2,03 | 0,19 | 0,14 | 0,83 | 0,02 | 0,01 | 0,07 |
| Isovalerat | 0,03 | 0,03 | 0,13 | 0,05 | 0,03 | 0,21 | 0,06 | 0,02 | 0,17 |
| Caproat | 0,51 | 0,24 | 2,20 | 0,39 | 0,19 | 1,74 | 0,08 | 0,03 | 0,23 |
| Summe | 23,04 | 6,04 | | 22,23 | 9,34 | | 35,35 | 9,23 | |

¹⁵ Die Bezeichnung *Acetat* wird in dieser Arbeit sowohl für die dissozierte als auch für die undissozierte Säure (Essigsäure, IUPAC-Bez. Ethansäure) verwendet, da bei den pH-Werten in den Versuchen beide Formen relevant sind. Gleches gilt für *Propionat* (Propionsäure, IUPAC-Bez. Propansäure), *Butyrat* (Buttersäure, IUPAC-Bez. Butansäure), *Valerat* (Valeriansäure, IUPAC-Bez. Pentansäure), *Caproat* (Capronsäure, IUPAC-Bez. Hexansäure) und andere organische Säuren.

Während in Versuch a und Versuch b die durchschnittliche molare Gesamtkonzentration an den analysierten VFA mit 23,04 mM und 22,23 mM erheblich unterhalb der durchschnittlichen Konzentration von 35,35 mM in Versuch c lag, konnte in Versuch a und b eine Tendenz zur Akkumulation langerkettiger VFA wie Valerat und Caproat festgestellt werden (siehe Tabelle 3.8). In Versuch c hingegen waren diese VFA im Durchschnitt nur in sehr geringen Konzentrationen vorhanden. Unterschiede zeigten sich ebenso bei den kurzkettigen VFA Acetat, Propionat und, mit Einschränkungen, Butyrat. Hier lagen die Konzentrationen in Versuch c z.T. erheblich oberhalb der Konzentrationen in den Versuchen a und b.

In Versuch c stand durchschnittlich wesentlich mehr potenzielles Substrat in Form der einzelnen VFA für mikrobielle Sulfatreduktion zur Verfügung. Dabei bestand eine Korrelation zwischen dem Verbrauch an organischen Säuren und der berechneten Sulfatreduktionsausbeute (bezogen auf VFA-C, $p = 0,76$), allerdings waren der Ausbeutekoeffizient bezogen auf den verbrauchten Kohlenstoff (VFA-C) in Versuch c mit 0,022 mMol Sulfat / mMol C nur sehr gering. Eine effektive Nutzung der organischen Verbindungen war also mit diesem Versuchsaufbau bzw. in diesem Entwicklungsstadium nicht möglich.

Aus Abbildung 3.6 wird deutlich, dass auf der anderen Seite festzustellen war, dass alle VFA einschließlich Acetat effektiv in R_2 aus dem Abwasserstrom entfernt werden konnten. Lediglich die Butyratkonzentration blieb nahezu unvermindert. Es wurden an dieser Stelle jedoch keine weiteren Untersuchungen durchgeführt, die zur Klärung der in diesem Versuchsstadium dominierenden metabolischen Prozesse hätten beitragen können.

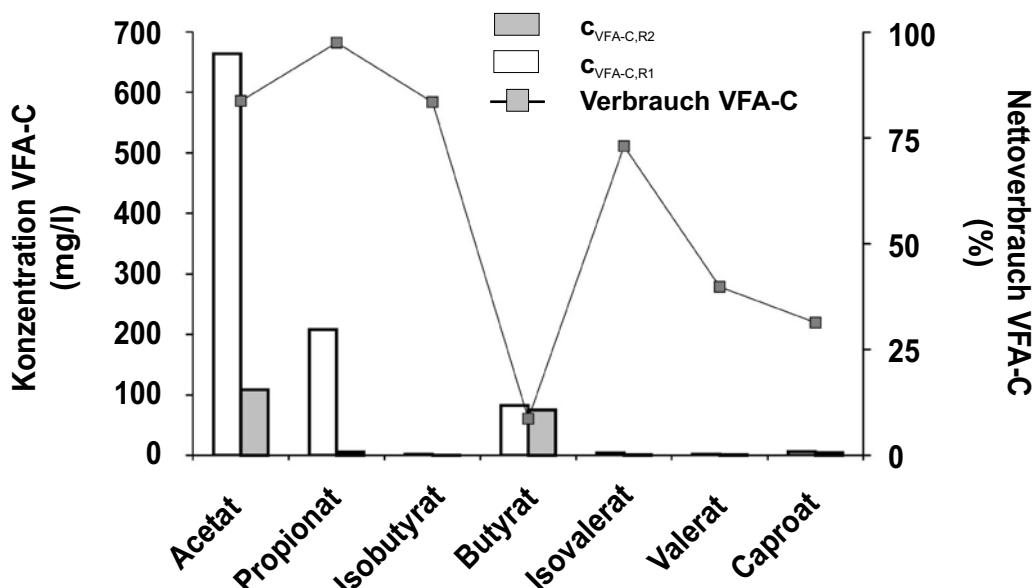


Abbildung 3.6:

Konzentration VFA-C im zweistufigen Reaktorsystem, Ablauf R₁ und R₂, Veränderung der Elutionsart in R₁, Kontinuierliche Elution mit Umlauf
(R₁: HRT 77,52 h, 35 g TS Silage, o. pH-Regelung, RT;
R₂: HRT 45,22 h, pH 7, 100 U/min, 25°C, 0,1 l/min N₂)

3.4.3.2 Einfluss des pH-Wertes in R₁

Die Ergebnisse in Abschnitt 3.3 boten Anhaltspunkte, dass im untersuchten System mit einer starken Versauerungskapazität zu rechnen war und ein Absinken des pH-Wertes in Bereiche bis pH 4,0 einen erheblichen Einfluss auf die mikrobiellen Prozesse haben konnte. Während in diesem Versuchsstadium R₂ auf pH 7,0 geregelt wurde, blieb der pH-Wert in R₁ bis dahin unbeeinflusst. Es wurden an dieser Stelle Versuche durchgeführt, bei denen der pH-Wert in R₁ auf jeweils pH 4,2, pH 4,8 und pH 5,4 geregelt wurde. Abbildung 3.7 zeigt die notwendige Protonendosierung (Regelung mit 0,5N HCl) zur Regelung auf die entsprechenden pH-Werte.

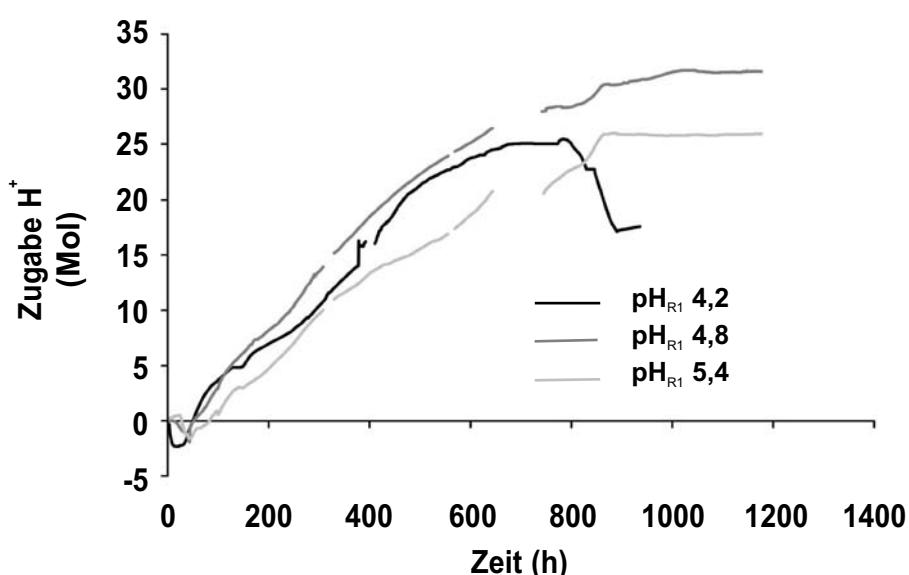


Abbildung 3.7:

Dosierung H⁺ in R₁ im zweistufigen Reaktorsystem, Veränderung des pH-Wertes

in R₁

(R₁: HRT = 168,00 h, 40 g TS Silage, RT;

R₂: HRT = 90,40 h, pH 7, 25°C, 100 U/min, 0,1 l/min N₂)

Es wird ersichtlich, dass, bei ähnlichen Dosierungverläufen, in allen Versuchen gleichmäßig Säure zur Regelung des pH-Wertes zugegeben werden musste. Lediglich unmittelbar zu Versuchsbeginn erfolgte kurzzeitig eine Dosierung von Lauge, um den pH-Wert anzuheben. Bei Dosierung des neutralen Mediums SRM reichte also unter diesen Versuchsbedingungen zu keinem Zeitpunkt die Bildung von VFA aus der Silage aus, um, wie angestrebt, den pH-Wert im sauren Bereich zu stabilisieren (vgl. Abschnitt 3.1). Unter Vernachlässigung einer möglichen Stabilisierung der Sulfatreduktion, konnte also unter diesen Versuchsbedingungen zunächst kein Potenzial zur Selbststabilisierung des Prozesses in R₁ erkannt werden. Eben jene Verbesserung der Sulfatreduktion bezogen auf den Gesamtprozess und eine Verbesserung der Trennung der Prozesse in R₁ und R₂ konnten im Verlauf der Versuche jedoch teilweise festgestellt werden (vgl. Abbildungen 3.8a/b).

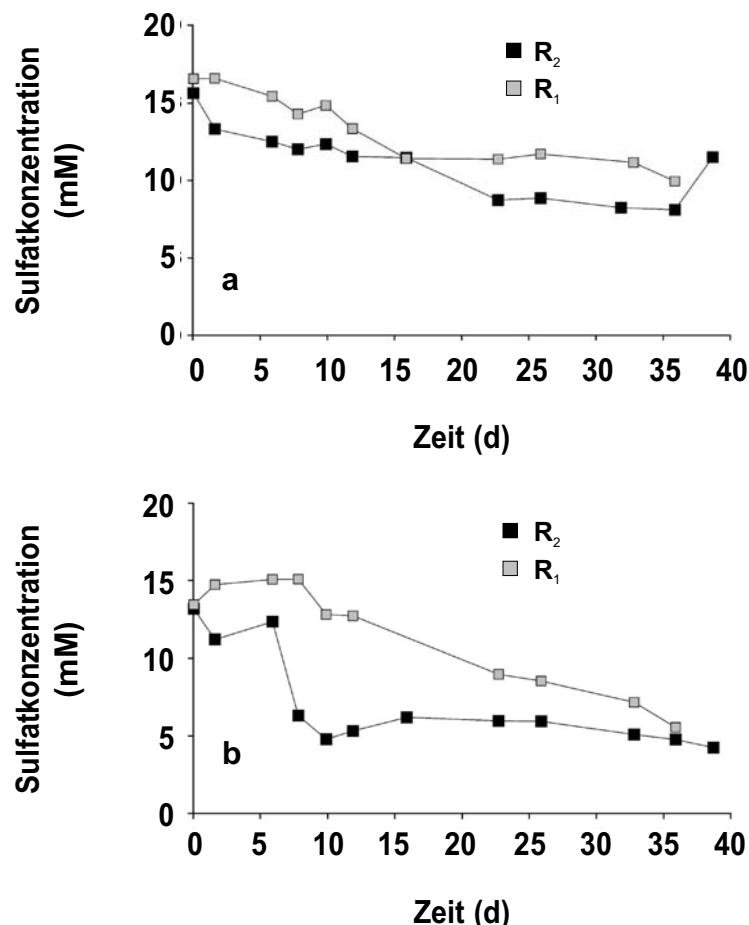


Abbildung 3.8:

Sulfatkonzentration im zweistufigen Reaktorsystem, Veränderung des pH-Wertes in R_1 , a: pH _{R_1} 4,8, b: pH _{R_1} 5,4
 $(R_1$: HRT = 168,00 h, 40 g TS Silage, RT;
 R_2 : HRT = 90,40 h, pH 7, 25°C, 100 U/min, 0,1 l/min N₂)

In Abbildung 3.8a/b sind die Konzentrationsverläufe für Sulfat in R_1 und R_2 für die Versuche mit pH-Regelung auf pH 4,8 und pH 5,4 dargestellt. In den Versuchsansätzen wurde entsprechend eine Sulfatreduktionseffizienz von 34,8% und 62,2% bezogen auf die Sulfatkonzentration im Medium SRM erreicht. Die anteilige Sulfatreduktion in R_1 war in beiden Ansätzen jedoch wiederum nicht zu vernachlässigen, so dass die angestrebte stabile Trennung, die bei Regelung auf pH 5,4 zwar im Versuchsverlauf einen maximalen prozentualen Wert von 80% hatte, nicht erreicht wurde. Im späteren Versuchsstadium stieg der anteilige Beitrag der Sulfatreduktion in R_1 im Vergleich zum Gesamtprozess stetig an und die Sulfatkonzentrationen in beiden Prozessstufen näherten sich einander an. Bei Regelung des pH-Wertes in R_1 auf pH 5,4 konnte der bis zu diesem Zeitpunkt günstigste Prozessverlauf erreicht werden.

3.4.3.3 Einfluss der Begasung in R₁

Im nächsten Schritt wurde die technische Beeinflussbarkeit des Prozessverlaufes in R₁ durch den kontinuierlichen Austausch der Gasphase bzw. durch die Begasung der Flüssigphase untersucht. Vorstellbar war, dass durch Stripping toxische Effekte verminderst werden bzw. eine weitere Sicherung des anaeroben Milieus im Falle der Begasung mit N₂. Ebenso wurde eine Minderung des Wasserstoffpartialdrucks angestrebt, um ein passendes Milieu für fermentative Prozesse zu sichern. Es sollte jedoch auch ein möglicher positiver Effekt durch Begasung mit Druckluft mit geringen Durchflüssen untersucht werden, da gerade Milchsäurebakterien eine verhältnismäßig hohe Toleranz gegenüber molekularem Sauerstoff haben [Gottschalk 1986].

Nachfolgend sind drei Versuche dargestellt, wobei in Versuch a der Überstand der Flüssigphase mit N₂ (0,2 l/min), in Versuch b die Gasphase mit Druckluft (0,1 l/min) und in Versuch c der Überstand der Flüssigphase mit Druckluft (0,2 l/min) begast wurde. Die Konzentrationsverläufe für Sulfat in R₁, R₂ und im Zulauf der drei Versuche sind in Abbildungen 3.9a-c entsprechend dargestellt. Gerade in Versuch a (Begasung mit N₂) konnte festgestellt werden, dass über den dargestellten Zeitraum kontinuierlich Sulfat-reduktion stattfand. Ebenso konnte bereits im frühen Versuchsstadium eine effektive Trennung der beiden Reaktionsstufen bezüglich der Sulfat-reduktion erreicht werden. In Versuch b (Begasung des Gasraums mit Druckluft) konnte ebenfalls eine effektive Minderung der Sulfatkonzentration im Gesamtsystem erreicht werden, jedoch konnten die Stufen R₁ und R₂ nicht so effektiv getrennt werden wie parallel bei Begasung der Flüssigphase mit N₂. Abweichend stellte sich der Prozessverlauf in Versuch c ungünstig dar. Hier konnte anfänglich noch eine gute Sulfat-reduktion festgestellt werden, jedoch konnte nur eine sehr geringfügige Trennung erreicht werden. Nach einer Versuchsdauer von ca. 35 Tagen hatten sich die Sulfatkonzentrationen in R₁ und R₂ weitgehend angeglichen. In Tabelle 3.9 sind die durchschnittlichen Werte zur Effizienz der Sulfat-reduktion und zur Trennung der beiden Stufen bezüglich der Sulfat-reduktion angegeben.

Es wurde bei den Experimenten deutlich, dass die Begasung mit Druckluft ein verhältnismäßig hohes Biomassewachstum in R₁ im dritten Versuch bewirkt hatte und so eher eine Destabilisierung als eine Stabilisierung der gewünschten Prozesse erreicht wurde (Daten nicht dargestellt). Die angestrebte Bildung von Milchsäure konnte in beiden mit Druckluft begasten Systemen nicht festgestellt werden (Daten nicht dargestellt).

Eine Möglichkeit der Stabilisierung von R₁ wurde in der Ausnutzung des Versauerungspotenzials von R₁ erkannt, wobei durch Inhibierung bzw. Limitation der metabolischen Aktivität im Allgemeinen und insbesonders durch Inhibierung der fermentativen Mikroorganismen die DOC-Konzentration stabilisierbar erschien. In Abbildung 3.10 sind die pH-Verläufe für R₁ in den drei Versuchen dargestellt. Es wird deutlich, dass nach anfänglicher Etablierung des pH-Wertes in R₁ nach ca. sieben Tagen in allen Versuchen der pH-Wert deutlich anstieg. Während des gesamten Versuchsverlaufes zeigte sich für Begasung mit N₂ am ehesten eine Tendenz einer Stabilisierung im sauren pH-Bereich, die jedoch nicht ausreichend war.

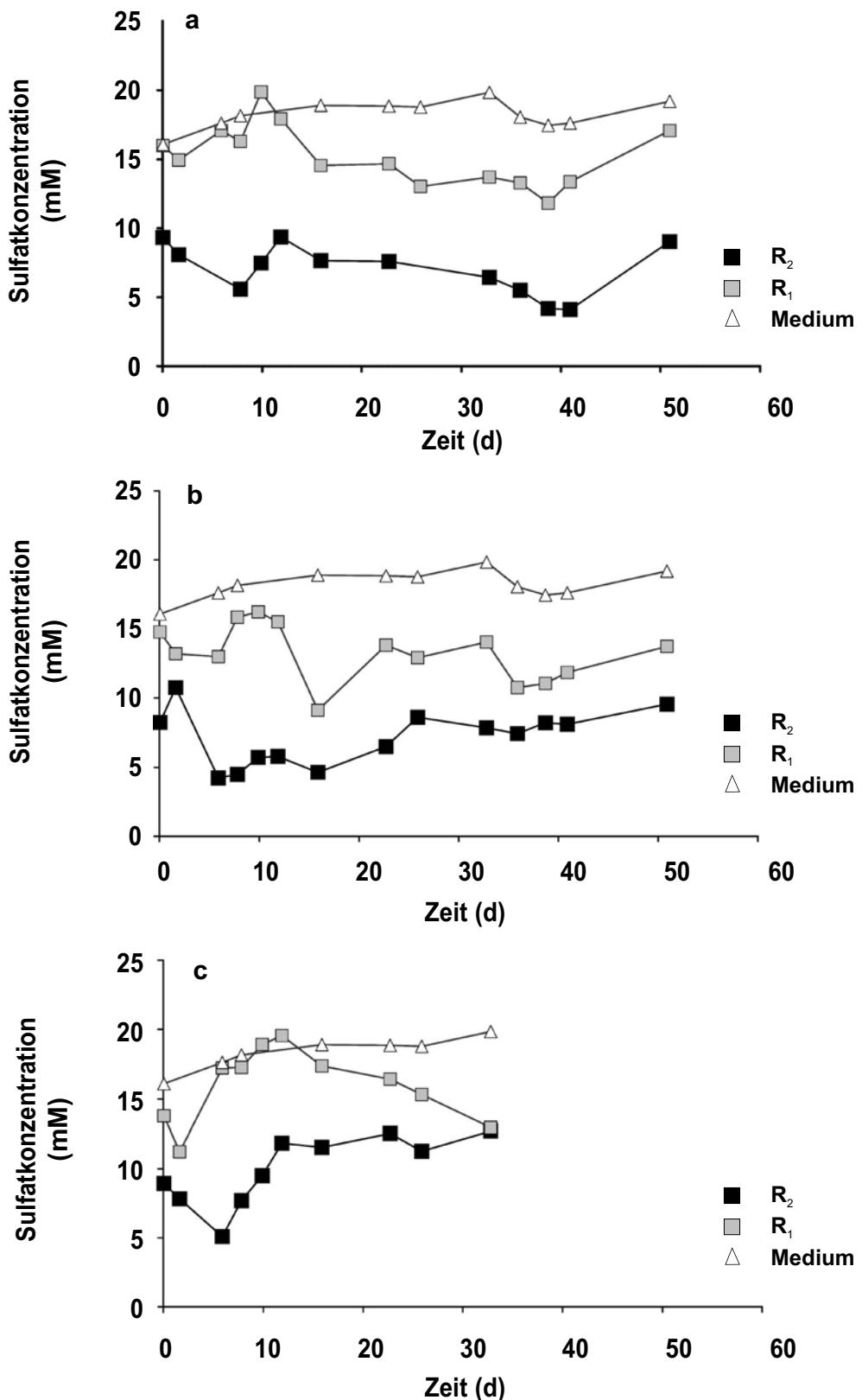


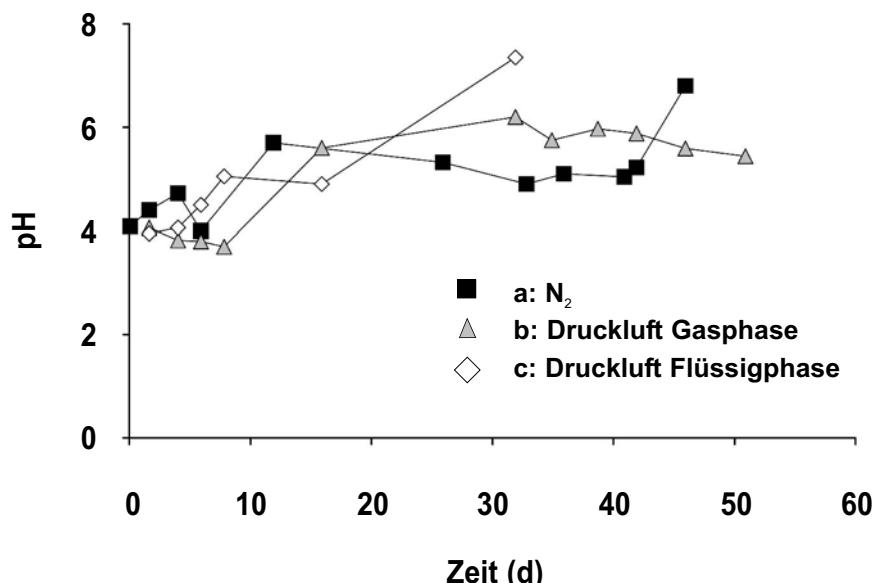
Abbildung 3.9:

Sulfatkonzentration im zweistufigen Reaktorsystem, Veränderung der Begasung in R_1 , a: N₂-Begasung Flüssigphase 0,2 l/min, b: Druckluft-Begasung Gasphase 0,1 l/min, c: Druckluft-Begasung Flüssigphase 0,2 l/min
 $(R_1$: HRT = 137,30 h, 140 g TS Silage, o. pH-Regelung, RT;
 R_2 : HRT = 80,78 h, pH 7, 25°C, 100 U/min, 0,1 l/min N₂)

Tabelle 3.9:

Sulfatreduktion und Trennung_{R₁-R₂}¹⁶ im zweistufigen Reaktorsystem, Veränderung der Begasung in R₁
(R₁: HRT 137,3 h; 140 g TS Silage; o. pH-Regelung; RT;
R₂: HRT 80,8 h; pH 7,0; 25°C, 100 U/min; 0,1 l/min N₂)

| | | Versuch a | | Versuch b | | Versuch c | |
|---|----|------------------|----------|------------------|----------|------------------|----------|
| | | \bar{x} | σ | \bar{x} | σ | \bar{x} | σ |
| Sulfatreduktion_{ges} | mM | 11,61 | 2,16 | 11,26 | 2,19 | 7,70 | 1,60 |
| Sulfatreduktion_{R₂} | mM | 8,24 | 1,75 | 6,14 | 2,99 | 6,12 | 3,57 |
| Trennung_{R₁-R₂} | % | 69,94 | 14,75 | 50,46 | 20,98 | 60,60 | 33,99 |

**Abbildung 3.10:**

pH-Wert im zweistufigen Reaktorsystem, Veränderung der Begasung in R₁, a: N₂-Begasung Flüssigphase 0,2 l/min, b: Druckluft-Begasung Gasphase 0,1 l/min, c: Druckluft-Begasung Flüssigphase 0,2 l/min
(R₁: HRT = 137,30 h, 140 g TS Silage, o. pH-Regelung, RT;
R₂: HRT = 80,78 h, pH 7, 25°C, 100 U/min, 0,1 l/min N₂)

Aufgrund der Abhängigkeit des pH-Wertes in R₂ von dem in R₁ musste untersucht werden, welchen Einfluss eine Versauerung von R₁ auf R₂ hatte. Eine pH-Regelung in R₂, wie in den Vorversuchen geschehen, sollte im technischen Rahmen aus ökonomischen und technischen Gründen vermieden werden. Die Ergebnisse zur Dosierung von saurer und alkalischer Lösung (1N HCl / 1N NaOH) zur pH-Regelung auf pH 7,0 sind in Abbildung 3.11 dargestellt.

¹⁶ prozentualer Anteil der Minderung der Sulfatkonzentration in R₂ an der Minderung der Sulfatkonzentration im Gesamtsystem bestehend aus R₁ und R₂

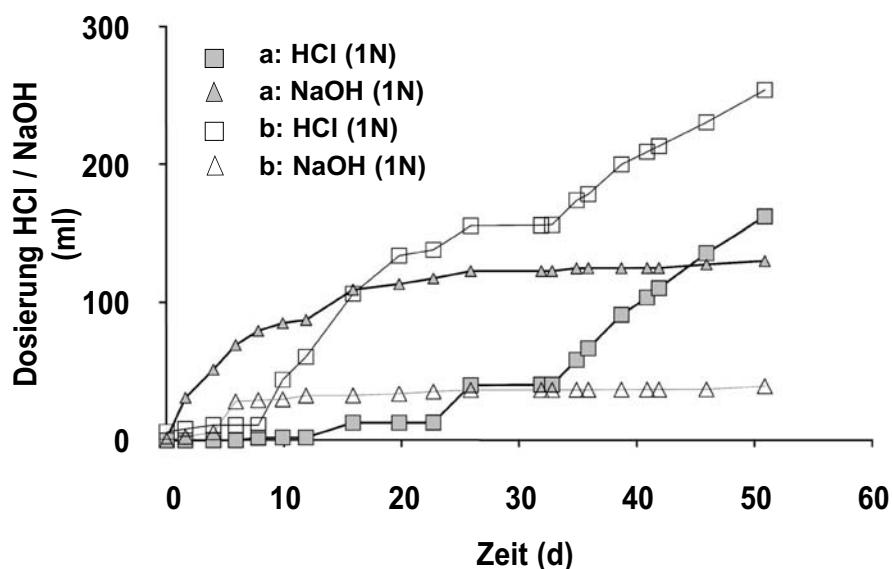


Abbildung 3.11:

Säure-/ Basedosierung im zweistufigen Reaktorsystem, Veränderung der Begasung in R_1 , a: N_2 -Begasung Flüssigphase 0,2 l/min, b: Druckluft-Begasung Gasphase 0,1 l/min, c: Druckluft-Begasung Flüssigphase 0,2 l/min
 $(R_1: HRT = 137,30\text{ h}; 140\text{ g TS Silage}; o. pH-Regelung; RT;$
 $R_2: HRT = 80,78\text{ h}; pH 7; 25^\circ\text{C}; 100\text{ U/min}; 0,1\text{ l/min }N_2)$

Hier ist festzustellen, dass es nach einer anfänglichen Tendenz zur Versauerung in R_2 , verbunden mit kontinuierlicher Dosierung von Natronlauge, nach einem bestimmten Zeitraum in den beiden dargestellten Versuchen zu einem Anstieg des pH-Wertes kam und Säure dosiert werden musste. Auffällig war, dass die Startphase in Versuch b nach ca. vier Tagen wesentlich früher beendet und der pH-Wert stabilisiert wurde als in Versuch a nach 15 bis 20 Tagen. In beiden Versuchsreihen stellte sich ein stabiles Redoxpotenzial E_h von ca. -300 mV ein.

Es wurde wiederum ermittelt, welche VFA zur Verfügung standen und mit welchen Ausbeutekoeffizienten diese umgesetzt wurden. In Tabelle 3.10 sind die durchschnittlichen Konzentrationen der einzelnen Säuren, der Mittelwert der Gesamtkonzentration an VFA sowie der prozentuale Verbrauch von DOC in R_2 angegeben.

Es ist zu erkennen, dass im Durchschnitt bei Begasung mit N_2 die höchsten VFA-Konzentrationen nachgewiesen werden konnten. Jedoch konnte in allen Fällen keine eindeutige Korrelation zwischen Sulfatreduktion und Verbrauch von VFA festgestellt werden, so dass anzunehmen ist, dass die Stabilisierung des mikrobiellen Systems nicht bzw. noch nicht ausreichend war. Es konnte des weiteren durch den Vergleich der Konzentrationen der VFA und des DOC gezeigt werden, dass der gelöste organische Kohlenstoff in den erfassten VFA gebunden ist (Daten nicht dargestellt, vgl. Abb. 3.20).

Tabelle 3.10:

VFA-Konzentration in R₁ und DOC-Verbrauch in R₂ im zweistufigen Reaktorsystem, Veränderung der Begasung in R₁, a: N₂-Begasung Flüssigphase 0,2 l/min, b: Druckluft-Begasung Gasphase 0,1 l/min, c: Druckluft-Begasung Flüssigphase 0,2 l/min

(R₁: HRT 137,3 h; 140 g TS Silage; o. pH-Regelung; RT;

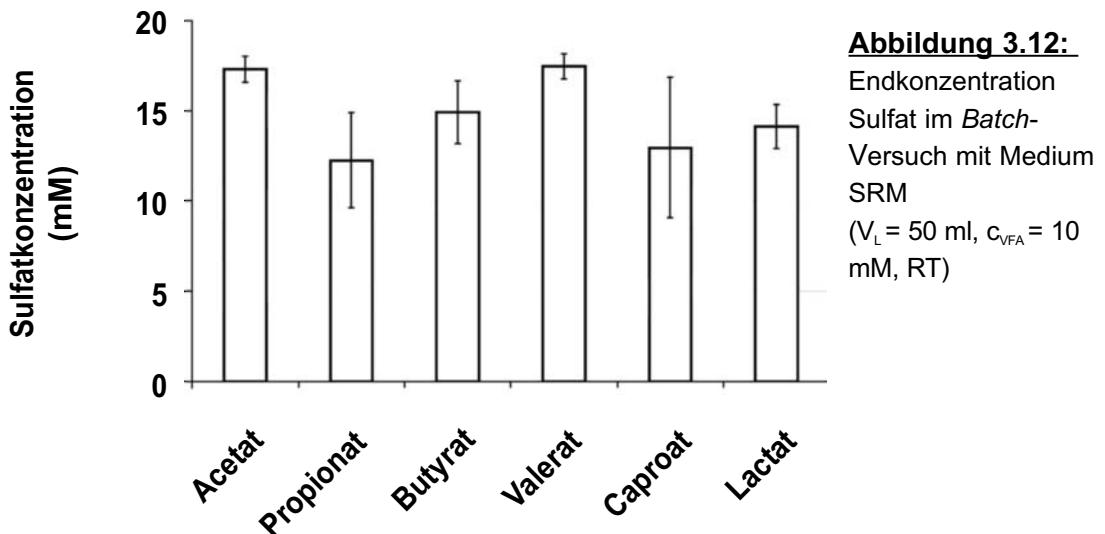
R₂: HRT 80,78 h; pH 7; 25°C; 100 U/min; N₂ 0,1 l/min)

| | | Versuch a | | Versuch b | | Versuch c | |
|--|----|------------------|--------------|------------------|--------------|------------------|--------------|
| | | \bar{x} | σ | \bar{x} | σ | \bar{x} | σ |
| Acetat_{R₁} | mM | 18,40 | 7,42 | 12,72 | 10,15 | 13,89 | 8,73 |
| Propionat_{R₁} | mM | 3,64 | 2,60 | 1,04 | 0,65 | 0,87 | 0,55 |
| Butyrat_{R₁} | mM | 3,53 | 3,33 | 0,46 | 0,58 | 0,53 | 0,48 |
| Valerat_{R₁} | mM | 0,78 | 0,78 | 0,04 | 0,03 | 0,03 | 0,03 |
| Caproat_{R₁} | mM | 1,40 | 1,55 | 0,09 | 0,10 | 0,19 | 0,21 |
| Summe | mM | 27,92 | 11,25 | 14,44 | 11,08 | 15,63 | 9,17 |
| DOC-Verbrauch_{R₁} | % | 72,78 | 28,98 | 61,40 | 24,56 | 40,59 | 34,60 |

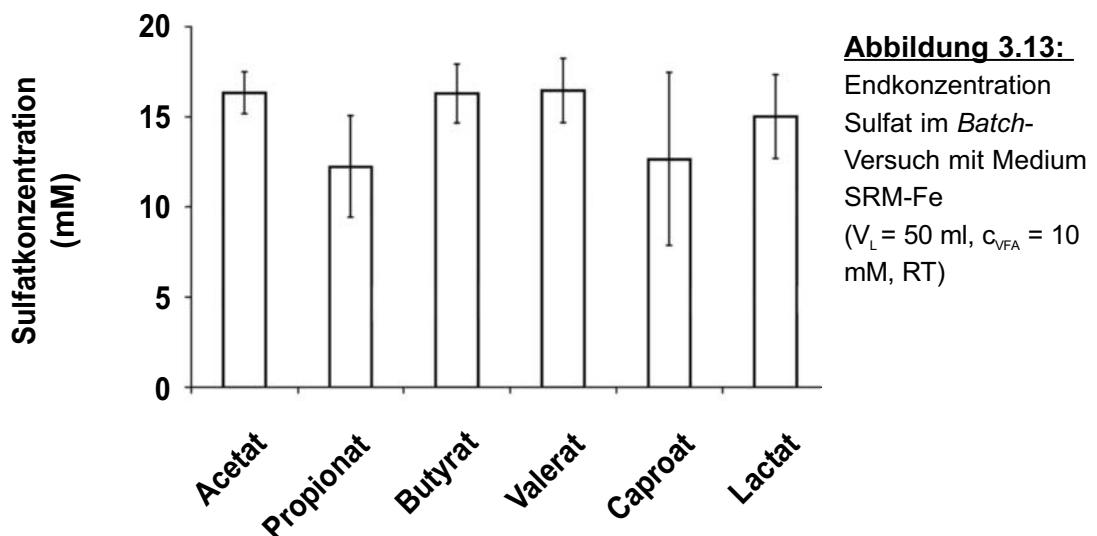
Das Spektrum und die Gesamtkonzentration an VFA haben sich im bisherigen Verlauf der Untersuchungen durch einfache technische Maßnahmen als beeinflussbar dargestellt. Es galt im nächsten Schritt festzustellen, welche der einzelnen niedermolekularen Fettsäuren im Rahmen des Prozessverlaufs von Relevanz für die mikrobielle Sulfatreduktion waren.

3.4.4 Batch-Versuche zum Substratumsatz - Identifizierung der relevanten Elektronendonoren

Es wurden zum einen *Batch*-Experimente unter Zugabe der jeweils einzelnen Säuren durchgeführt. Zum anderen wurde untersucht, inwiefern eine Verschiebung des Spektrums der vorhandenen Säuren mikrobielle Sulfatreduktion im *Batch*-Versuch beeinflusste. Durchgeführt wurden die Versuche mit Kulturen aus R₂ aus mehreren kontinuierlichen Versuchen. Es wurden zunächst jeweils einzelne VFA in Konzentrationen von 10 mM in jedem einzelnen Versuch zugegeben. Gewählt wurden hier nur die Fettsäuren, deren potenzielle Relevanz aufgrund der im Versuchsverlauf nachgewiesenen Konzentrationen gezeigt wurde. Des weiteren sollte untersucht werden, ob die Anwesenheit von Sedimenten im Medium bzw. die verstärkte Entstehung von Sedimenten in Form von FeS-Ausfällung einen Einfluss auf die metabolischen Prozesse hatte. Aus diesem Zweck wurden die Experimente sowohl mit dem Medium SRM (stark eisenhaltig), als auch mit dem Medium SRM-Fe (gering eisenhaltig) durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Form der abschließend gemessenen Sulfatkonzentrationen in den Abbildungen 3.12 und 3.13 entsprechend für die genannten Medien dargestellt.

**Abbildung 3.12:**

Endkonzentration Sulfat im *Batch*-Versuch mit Medium SRM
($V_L = 50$ ml, $c_{VFA} = 10$ mM, RT)

**Abbildung 3.13:**

Endkonzentration Sulfat im *Batch*-Versuch mit Medium SRM-Fe
($V_L = 50$ ml, $c_{VFA} = 10$ mM, RT)

Aus den Abbildungen wird deutlich, dass zuletzt genannter Effekt in zumindest diesem ersten Versuchsanstz nicht nachgewiesen werden konnte, die Abweichungen zwischen den gemessenen Endkonzentrationen wiesen keine signifikanten Unterschiede auf. Insgesamt war die Minderung der Sulfatkonzentration entsprechend der vergleichsweise geringen Konzentrationen an verfügbarem Elektronendonator gering aber dabei auch starken Schwankungen unterworfen. Anscheinend unterschieden sich die eingesetzten Kulturen aus den kontinuierlichen Versuchen in diesem Versuchsstadium erheblich voneinander. Die höchsten Ausbeuten wurden in Anwesenheit von Propionat und Caproat festgestellt, für die die durchschnittlichen Endkonzentrationen an Sulfat bei entsprechend 12,25 mM (Propionat, SRM und SRM-Fe), bzw. 12,97 mM und 12,67 (Caproat, SRM / SRM-Fe) lagen.

In einem weiteren Ansatz wurde untersucht, wie sich eine Verschiebung der Anteile an VFA auf den mikrobiellen Sulfatreduktionsprozess auswirkte. Zu diesem Zweck wurden

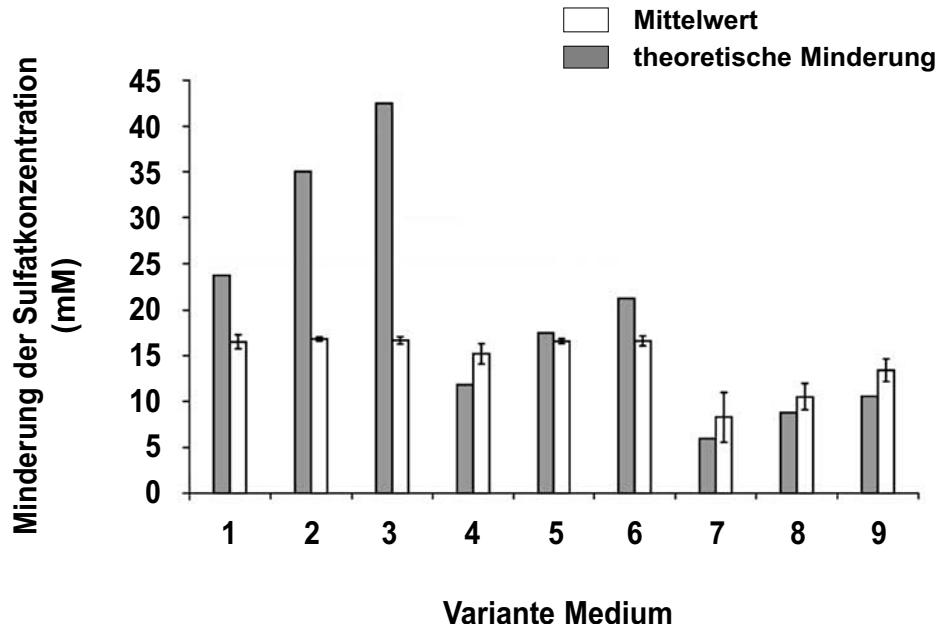
neun unterschiedliche Substratgemische in unterschiedlichen Anteilen und Konzentrationen an Acetat, Propionat, Butyrat, Valerat und Caproat als Kohlenstoff- und Energiequelle eingesetzt. Die Anfangskonzentrationen sind in Tabelle 3.11 dargestellt. Gleichzeitig wurden die Konzentrationen für H_2 und DOC angegeben, die damit theoretisch für mikrobielle Prozesse mit Zugabe der Substrate zur Verfügung standen. Dabei stellt die in Tabelle 3.11 hervorgehobene H_2 -Konzentration (Spalte H_2 low) denjenigen minimalen theoretischen Wert dar, der bei syntrophem Umsatz von Propionat, Butyrat, Valerat und Caproat unter Bildung von Wasserstoff und Acetat zur Verfügung stünde. Acetat stünde nach dieser These den SRB als Elektronendonator nicht zur Verfügung. Wird eine zusätzliche Verwertung von Acetat unter Kopplung an mikrobielle Sulfatreduktion angenommen, so erhöht sich die theoretische Konzentration des Elektronendonors H_2 beträchtlich (Spalte H_2 high).

Tabelle 3.11:

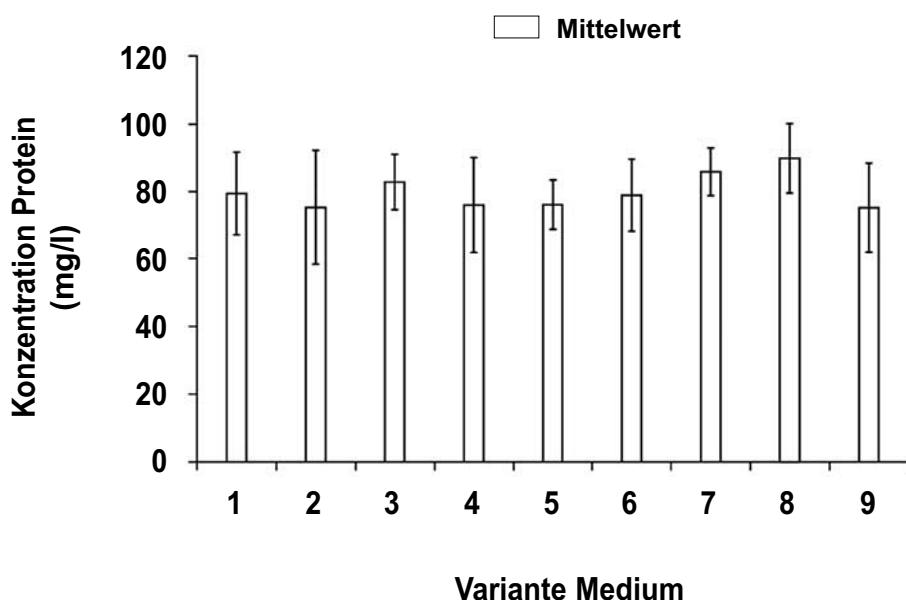
Dosierung VFA und theoretische Konzentrationen an Elektronendonator für Sulfatreduktion im *Batch*-Versuch

| Variante | Acetat (mM) | Propionat (mM) | Butyrat (mM) | Valerat (mM) | Caproat (mM) | VFA _{tot} (mM) | H_2 , low (mM) | H_2 , high (mM) | DOC (mM) |
|----------|----------------|-------------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------------------|---------------------|----------------------|-------------|
| 1 | 20,0 | 10,0 | 10,0 | 5,0 | 5,0 | 50,0 | 95,0 | 395,0 | 160,0 |
| 2 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 50,0 | 140,0 | 500,0 | 190,0 |
| 3 | 5,0 | 5,0 | 10,0 | 15,0 | 15,0 | 50,0 | 170,0 | 590,0 | 215,0 |
| 4 | 10,0 | 5,0 | 5,0 | 2,5 | 2,5 | 25,0 | 47,5 | 197,5 | 80,0 |
| 5 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 25,0 | 70,0 | 250,0 | 95,0 |
| 6 | 2,5 | 2,5 | 5,0 | 7,5 | 7,5 | 25,0 | 85,0 | 295,0 | 107,5 |
| 7 | 5,0 | 2,5 | 2,5 | 1,25 | 1,25 | 12,5 | 23,75 | 98,75 | 40,0 |
| 8 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 12,5 | 35,0 | 125,0 | 47,5 |
| 9 | 1,25 | 1,25 | 2,5 | 3,75 | 3,75 | 12,5 | 42,5 | 147,5 | 53,75 |

In den Abbildungen 3.14 und 3.15 sind entsprechend für die *Batch*-Versuche die Minderung der Sulfatkonzentration und die abschließende Proteinkonzentration dargestellt. Dargestellt sind ebenso wiederum die Mittelwerte zu beiden Datensätzen berechnet aufgrund des parallelen Ansatzes mit Mischkulturen aus unterschiedlichen kontinuierlichen Versuchen. Zusätzlich ist in Abbildung 3.14 vergleichend die theoretische Minderung der Sulfatkonzentration in Anlehnung an die berechnete H_2 -Konzentration (Tabelle 3.11, Spalte H_2 low), dargestellt.

**Abbildung 3.14:**

Minderung der Sulfatkonzentration im *Batch*-Versuch mit Medium SRM im Vergleich zur theoretisch möglichen Minderung unter Verbrauch von H_2 bei syntrochem Umsatz von VFA
($V_L = 50 \text{ ml}$, c_{VFA} = entsprechend Tabelle 3.11, RT)

**Abbildung 3.15:**

Konzentration Protein im *Batch*-Versuch mit Medium SRM
($V_L = 50 \text{ ml}$, c_{VFA} = entsprechend Tabelle 3.11, RT)

In Abbildung 3.14 ist zu erkennen, dass der Umsatz der organischen Säuren zur mikrobiellen Sulfatreduktion effektiv verlief und die Ergebnisse dieses Ansatzes bereits deutlich vom vorhergehenden Ansatz unterscheidbar waren, bei dem nur in Anwesenheit von Propionat und Caproat eine deutliche Minderung der Sulfatkonzentration nachgewiesen werden konnte. Bei Zugabe der Substrate entsprechend der Medienvarianten eins bis sechs wurde im Versuchszeitraum Sulfat nahezu vollständig eliminiert. Leichte Abweichungen hierzu fanden sich nur für Variante vier, im Falle eines VFA-Gradienten der stark in Richtung Acetat verschoben war. Hier übertraf die gemessene Minderung der Sulfatkonzentration bereits den theoretisch ermittelten minimalen Wert. Auffällig war hingegen das Ergebnis bei Zugabe der Substratgemische entsprechend den Konzentrationen in den Mediumsvarianten sieben bis neun. Hier konnte Sulfat nicht länger vollständig entfernt werden, jedoch lagen auch hier alle gemessenen Werte um einen bestimmten, relativ gleichmäßigen Wert von 1,8 bis 2,8 mM (21% bis 40%) oberhalb des theoretischen Wertes. Mögliche Erklärungen hierfür konnten zum einen sein, dass mit der Impfkultur ein gewisser Anteil organischer Verbindungen, möglicherweise auch nicht nachgewiesene partikuläre oder kolloidale Verbindungen in den Ansatz verschleppt wurden. Zum anderen war anzunehmen, dass Acetat ebenfalls eine Rolle als Elektronendonator für mikrobielle Sulfatreduktion spielte. Beide Thesen wurden an dieser Stelle nicht weiter verfolgt, da im Ergebnis gezeigt werden konnte, dass bei Adaptation der Mischkultur mit einem effektiven Umsatz aller VFA mit Sulfat als Elektronenakzeptor gerechnet werden konnte. Nur geringfügige Unterschiede zeigten sich hinsichtlich der abschließend gemessenen Proteinkonzentrationen (Abbildung 3.15). Es ergab sich durchschnittlich eine Konzentration von ca. 80 mg/l.

3.4.5 Technische Kopplung von R_1 und R_2 im kontinuierlichen Prozess

3.4.5.1 Vorgehensweise

Weitere kontinuierliche Versuche galten der Untersuchung relevanter Aspekte der technischen Umsetzbarkeit. Beibehalten wurde in diesen Versuchen die Strategie der Begasung der Flüssigphase von R_1 mit N_2 . Die in Abbildung 3.9 dargestellten kontinuierlichen Versuche wurden hierzu mit unterschiedlicher Zielsetzung weitergeführt. Übergeordnete Absicht war die Aufrechthaltung und Stabilisierung des Sulfatreduktionsprozesses und die Trennung der Stufen R_1 und R_2 hinsichtlich Sulfatreduktion möglichst ohne den regelungstechnischen Aufwand über den Begasungsaspekt hinaus weiter zu erhöhen. Im ersten Versuch (Fortführung des Versuches in Abbildung 3.9a) sollte zum einen der Verlauf des Verbrauchs an FSG sowie die Reaktion des Gesamtprozesses bei Austausch des FSG und Neu-Etablierung von R_1 untersucht werden. Zum anderen sollte das Systemverhalten bei Minderung der hydraulischen Verweilzeiten (d.h. der proportionalen Minderung der Verweilzeiten in R_1 und R_2) untersucht werden.

Im zweiten Versuch (Fortführung des Versuches in Abbildung 3.9b) sollte nach Zehrung des FSG und Ansteigen des pH-Wertes in R_1 ohne Austausch des FSG eine mögliche Strategie der Systemstabilisierung untersucht werden, wobei der pH-Wert in R_1 mit 1N Milchsäure stabilisiert und damit Milchsäure als Elektronendonator für mikrobielle Sulfat-reduktion in R_2 bereitgestellt werden sollte.

3.4.5.2 Kontinuierlicher Prozess mit Austausch des *Festen Substanzgemisches* (FSG) bei Verkürzung der Verweilzeit

Im ersten Versuch wurde ein zweimaliger Austausch des FSG vorgenommen. Dabei wurde entsprechend getrocknetes FSG in einem separaten Behälter überdeckt mit einer Kiesschicht bereitgestellt und jeweils 850 ml frisches Medium SRM und 850 ml Kultur aus dem verbrauchten R_1 zugegeben. Die neue Vorlage wurde sofort angeschlossen, ohne den Prozess zu unterbrechen. Mit jedem Austausch des FSG wurden die Verweilzeiten in R_1 und R_2 proportional zueinander verkürzt.

Es wurde gezeigt, dass eine kontinuierliche Sulfat-reduktion im zweistufigen System mit Silage als FSG über einen Zeitraum von 118 Tagen durchschnittlich um 73% erzielt werden konnte (vgl. Abbildung 3.16). Dabei zeigte sich, dass mit sinkender Verweilzeit die Sulfat-reduktionseffizienz in den einzelnen Phasen von 64,86% auf 70,29% und 81,21% verbessert und der Prozess stabilisiert wurde.

Während die Sulfatkonzentration im Gesamtprozess in den drei einzelnen Phasen entsprechend um durchschnittlich jeweils 12,44 mM, 13,25 mM und 11,51 mM gemindert werden konnte, fand dieser Prozess effektiv in der technischen Stufe R_2 statt (siehe Abbildungen 3.16 und 3.17). Der prozentuale Anteil zur Sulfat-reduktion in R_2 bezogen auf den Gesamtprozess (d.h. die prozentuale Trennung von R_1 und R_2) lag in den einzelnen Phasen bei 71,92%, 83,78% und 94,04% (siehe Abbildung 3.18). Die angestrebte Trennung der Reaktorstufen hinsichtlich der Sulfat-reduktion (Vermeidung von Sulfat-reduktion und somit Sulfid-fällung in R_1 , Etablierung von Sulfat-reduktion und Metall-fällung in R_2) wurde also in weiten Bereichen des Prozesses erreicht und besonders in Phase 2 und Phase 3 stabilisiert und verbessert.

Eine Stabilisierung des Prozesses ließ sich auch bezüglich pH-Wert und Redoxpotenzial erkennen (Abbildung 3.19). Der pH-Wert in R_2 wurde bis zum Tag 75 auf pH 7 geregelt, zur Regelung musste in der Anfahrungsphase NaOH dosiert werden, um eine Versauerung von R_2 zu verhindern. Ab diesem Zeitpunkt musste kontinuierlich (nahezu linear, auch bei Austausch des FSG und unterschiedlichen Verweilzeiten) Säure dosiert werden. Am Tag 95 wurde die pH-Regelung ausgesetzt, der pH-Wert stabilisierte auf ca. pH 7,4. Der pH-Wert in R_1 stabilisierte ohne Regelung in den letzten beiden Versuchsphasen im Bereich pH 4,0 bis 4,5. Abweichungen von diesem Wert waren feststellbar in der ersten Versuchsphase bis Tag 50 und bei aufgebrauchtem FSG. Letztere Situation führte zu einem plötzlichen Anstieg des pH-Wertes. Im Falle des steilen pH-Anstiegs wurde das FSG in R_1 als verbraucht ausgetauscht.

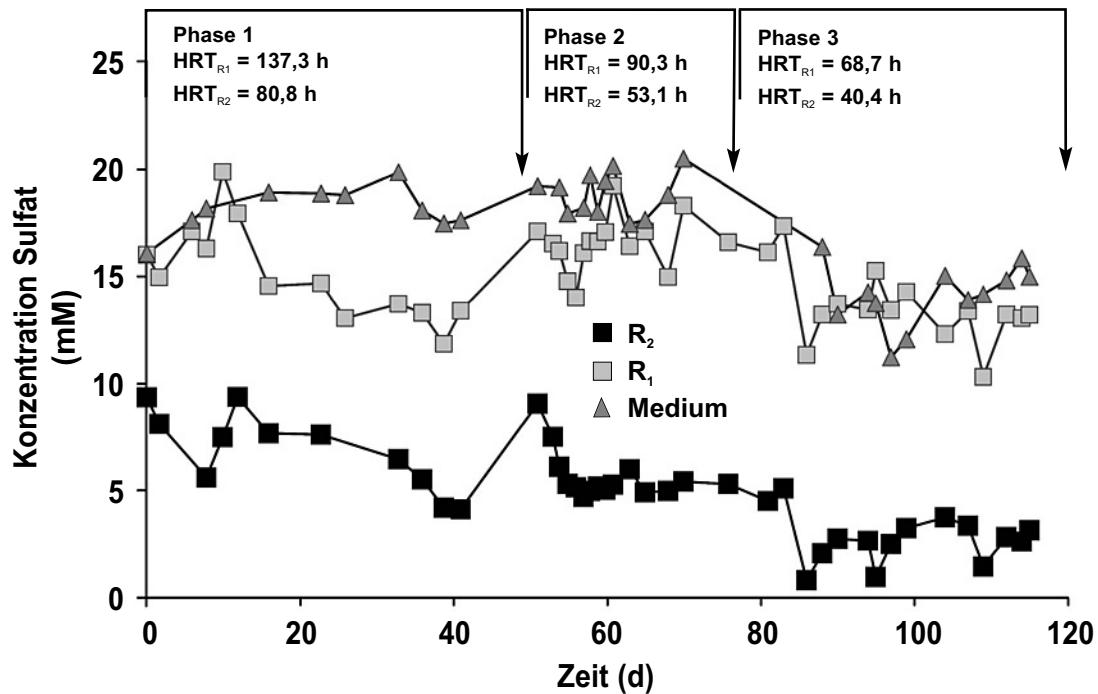


Abbildung 3.16:

Sulfatkonzentration im zweistufigen Reaktorsystem

(R₁: 140 g TS Silage, o. pH-Regelung, RT, Austausch d. FSG zu Beginn jeder Phase, 0,2 l/min N₂;
R₂: pH 7 bis Tag 95 dann o. pH-Regelung, 50 U/min, 25 °C, 0,2 l/min N₂)

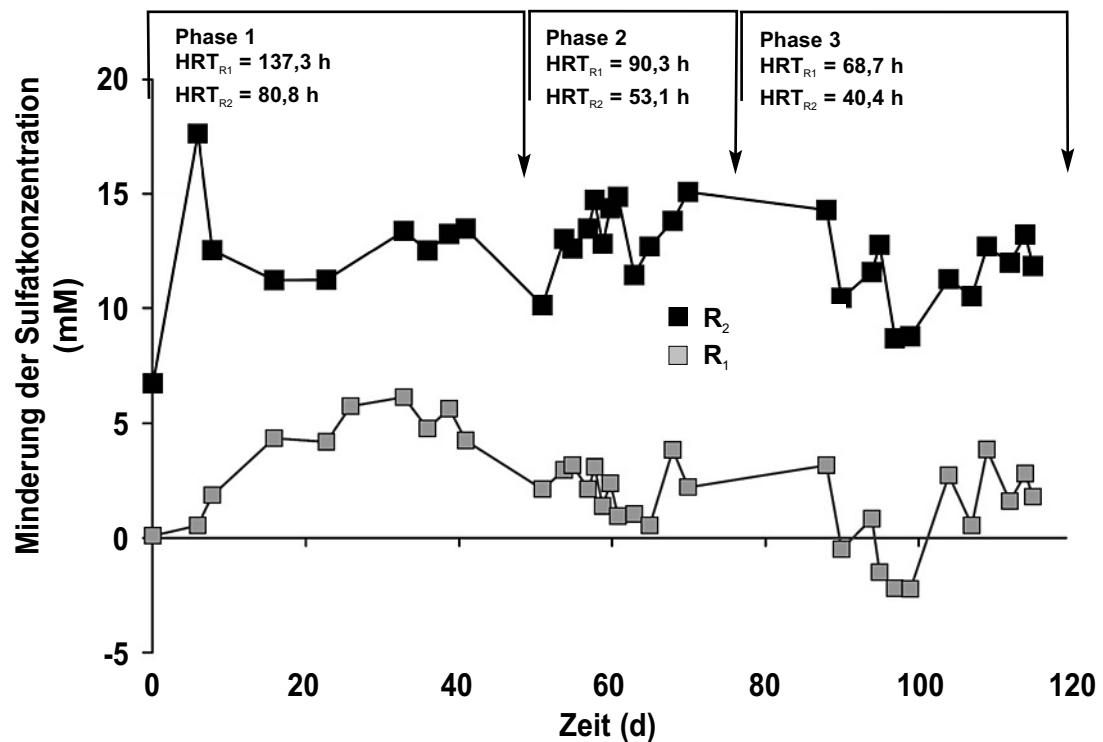


Abbildung 3.17:

Minderung der Sulfatkonzentration im zweistufigen Reaktorsystem

(R₁: 140 g TS Silage, o. pH-Regelung, RT, Austausch d. FSG zu Beginn jeder Phase, 0,2 l/min N₂;
R₂: pH 7 bis Tag 95 dann o. pH-Regelung, 50 U/min, 25 °C, 0,2 l/min N₂)

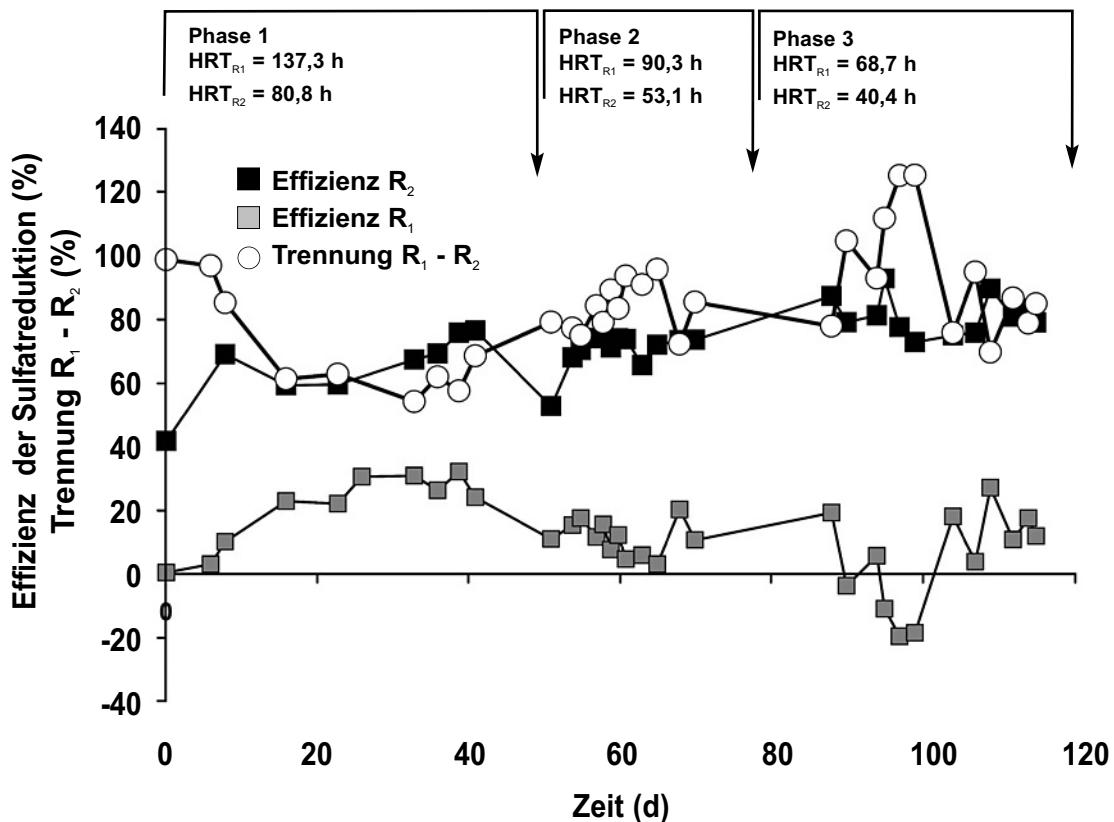


Abbildung 3.18:

Effizienz der Sulfatreduktion und Trennung von R_1 und R_2 im zweistufigen Reaktorsystem, (R_1 : 140 g TS Silage, o. pH-Regelung, RT, Austausch d. FSG zu Beginn jeder Phase, 0,2 l/min N_2 ; R_2 : pH 7 bis Tag 95 dann o. pH-Regelung, 50 U/min, 25 °C, 0,2 l/min N_2)

Aus Abbildung 3.20 geht hervor, dass es mit Vorlage von frischer Silage jeweils zu einem deutlichen Anstieg der DOC-Konzentration im Überstand in R_1 auf ca. 1500 mg/l kam. Bei Austausch des FSG und erneuten Anfahren von R_1 stand also sofort ausreichend DOC zur stabilen Prozessfortführung zur Verfügung. Im weiteren Verlauf der einzelnen Prozessphasen nahm die DOC-Konzentration kontinuierlich ab. Wie in Abbildung 3.20 zu erkennen, war der Verlauf der langsamen Minderung der DOC-Konzentration eher linear als exponentiell. Dies zeigte deutlich den Stellenwert der biologischen Prozesse zur Freisetzung löslicher organischer Verbindungen aus dem polymeren Substanzgemisch im Vergleich zum rein chemisch-physikalischen Elutionsprozess. In Abbildung 3.20 ist ebenso dargestellt, dass in Reaktor R_2 nach Vorlage von frischem FSG in R_1 ebenfalls ein deutlicher Anstieg der DOC-Konzentration erreicht wurde (bis ca. 800 mg/l). Im weiteren Verlauf nahm die Konzentration an DOC hier ebenfalls kontinuierlich ab. Der anaerobe Abbau der organischen Verbindungen unter den eingestellten Bedingungen war effektiv, so dass in R_2 durchschnittlich 80% des DOC aus dem Zulauf entfernt wurde (Abbildung 3.21). Während in R_1 aufgrund des niedrigen pH-Wertes keine Zunahme an *Gelöstem Anorganischem Kohlenstoff* (IC) stattfinden konnte (Stripping als CO_2), wurde in R_2 IC aufkonzentriert bis in Bereiche von 200 mg/l (Daten nicht dargestellt).

Abbildung 3.20 zeigt darüber hinaus, dass der vorhandene DOC nahezu vollständig über die VFA (genauer Acetat, Propionat, Butyrat, Valerat, Caproat) erfasst wurde. Die Abweichungen in der Bilanz in den letzten beiden Versuchphasen ab Tag 50 betragen oftmals weniger als 5%. Das bedeutet, dass als relevante Elektronendonoren für die Sulfatreduktion in R_2 lediglich diese fünf Verbindungen zur Verfügung standen. Deutliche Abweichungen zwischen VFA-Kohlenstoff und DOC zeigten sich bei Austausch des FSG. Hier wurde ein hoher Anteil (>40%) DOC zugeführt, der nicht mit den gemessenen VFA erfasst wurde. Dieser Überschuss war zu einem hohen Anteil Lactat (Daten nicht dargestellt).

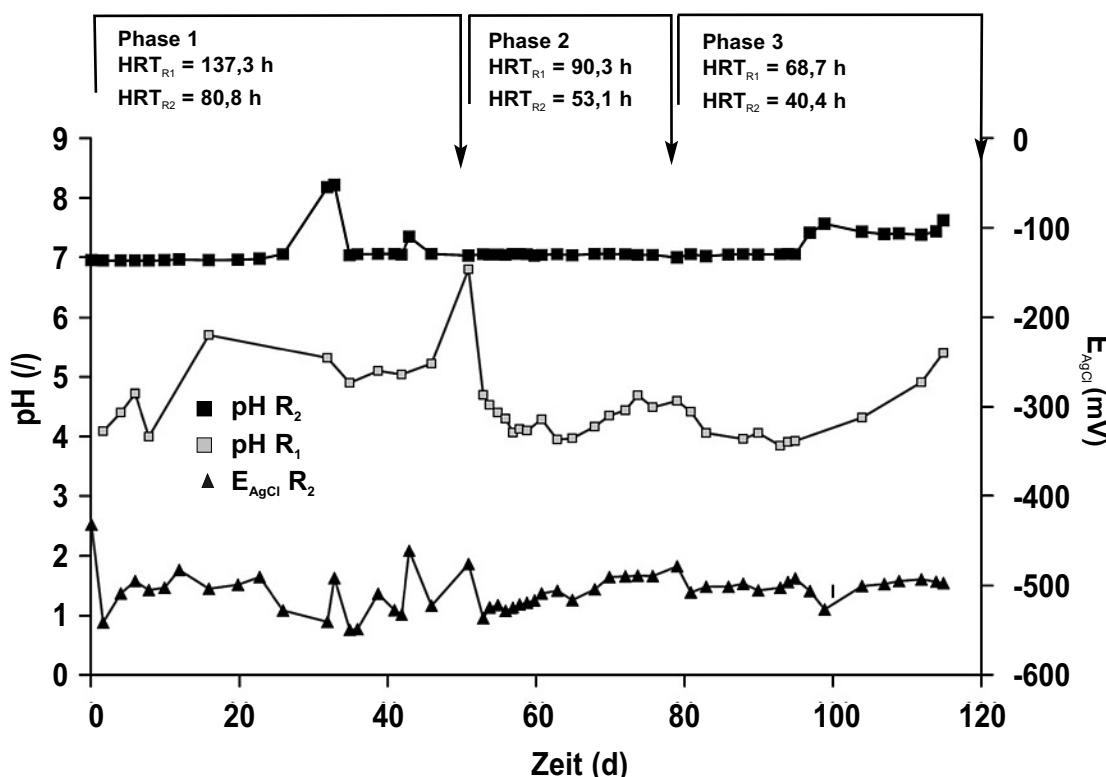
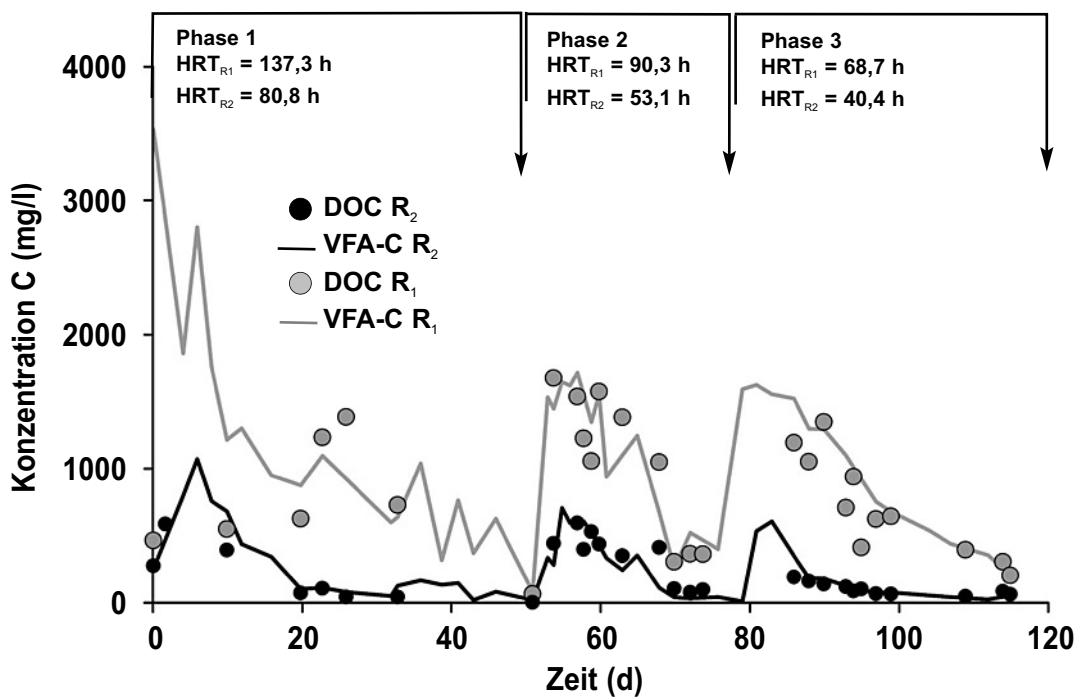


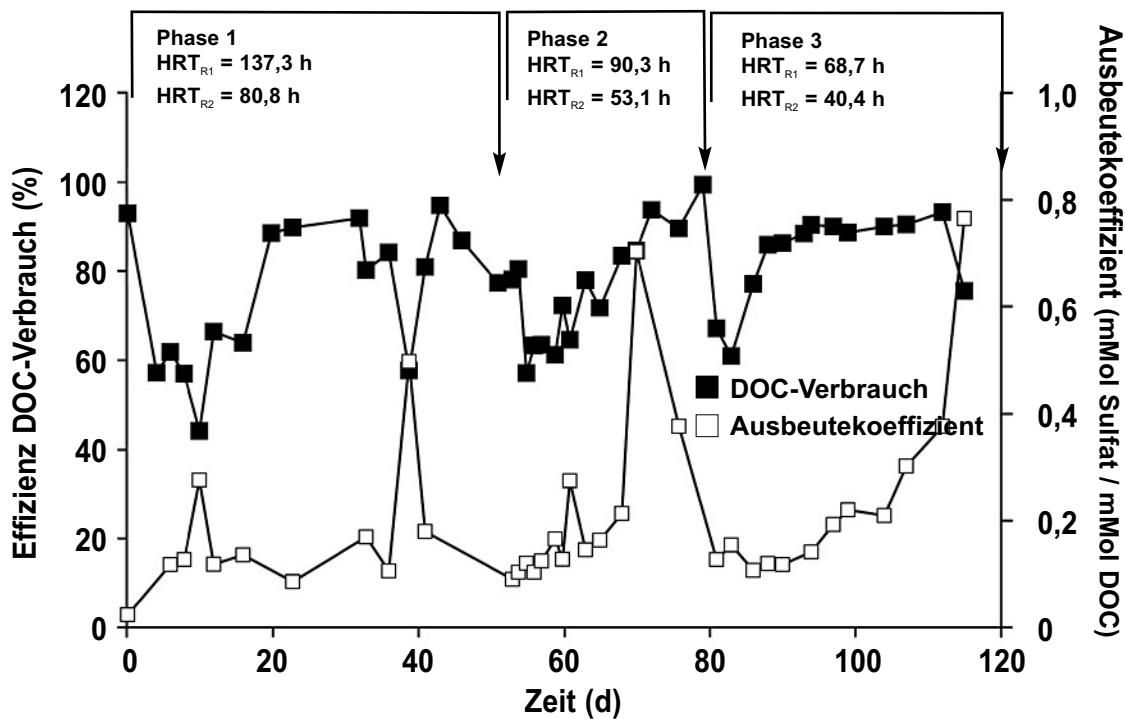
Abbildung 3.19:

pH-Wert und E_{AgCl} -Wert im zweistufigen Reaktorsystem,
(R₁: 140 g TS Silage, o. pH-Regelung, RT, Austausch d. FSG zu Beginn jeder Phase, 0,2 l/min N₂;
R₂: pH 7 bis Tag 95 dann o. pH-Regelung, 50 U/min, 25 °C, 0,2 l/min N₂)

Anhand der berechneten Ausbeutekoeffizienten bezogen auf den verbrauchten DOC war festzustellen, dass der Umsatz der organischen Verbindungen mit Ausbeutekoeffizienten von durchschnittlich 0,21 mMol Sulfat / mMol DOC verglichen mit den vorherigen Versuchen sehr effektiv verlief. Auffällig war der steile Anstieg der Ausbeuten zum Ende jeder Versuchphase. Trotz fallender DOC-Konzentrationen im Zulauf von R₂ blieb die Sulfatreduktion relativ konstant. Es konnte hier jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass Sulfat aufgrund sinkender Konzentration bereits limitierte.

**Abbildung 3.20:**

Konzentration gelöster Kohlenstoff im zweistufigen Reaktorsystem,
 (R₁: 140 g TS Silage, o. pH-Regelung, RT, Austausch d. FSG zu Beginn jeder Phase, 0,2 l/min N₂;
 R₂: pH 7 bis Tag 95 dann o. pH-Regelung, 50 U/min, 25 °C, 0,2 l/min N₂)

**Abbildung 3.21:**

Effizienz des DOC-Verbrauchs und Ausbeutekoeffizient im zweistufigen Reaktorsystem,
 (R₁: 140 g TS Silage, o. pH-Regelung, RT, Austausch d. FSG zu Beginn jeder Phase, 0,2 l/min N₂;
 R₂: pH 7 bis Tag 95 dann o. pH-Regelung, 50 U/min, 25 °C, 0,2 l/min N₂)

In signifikanten Konzentrationen wurden Acetat, Propionat, Butyrat, Valerat und Caproat festgestellt. Die Konzentrationsverläufe sind in den Abbildung 3.22a-e dargestellt. Bei Vorlage von FSG in R, wurden diese Fettsäuren zunächst alle in hohen Konzentrationen eluiert, es dominierten in dieser Phase Acetat, Propionat und Butyrat. Im weiteren Verlauf wurde auf der einen Seite festgestellt, dass nach anfänglicher Minderung der Konzentration aller Säuren im Überstand von R₁ ein zweites Maximum nach ca. 14 Tagen erreicht wurde und, auf der anderen Seite, dass in dieser Phase ein höherer Anteil an Valerat, Caproat und Butyrat (verglichen mit Acetat und Propionat) eluiert wurde. Der Abbau der einzelnen VFA war deutlichen Schwankungen unterworfen. Mit Ausnahme von Acetat wurden die einzelnen VFA besonders in Phase 2 und Phase 3 nahezu vollständig aufgebraucht. Der Verbrauch von Acetat lag in diesen Phasen jedoch nur bei ca. 61 %.

Obwohl festgestellt wurde, dass der DOC, der R₂ zugeführt wurde, in den stabilen Phasen nahezu vollständig als Acetat, Propionat, Butyrat, Valerat und Caproat vorlag, besteht zusätzlich die Möglichkeit, dass suspendierte Verbindungen im Zulauf von R₂ als Kohlenstoff- und Energiequelle für mikrobielle Sulfatreduktion zur Verfügung standen. Dies wurde hier nicht näher untersucht.

Unter Vernachlässigung dieser letztgenannten Möglichkeit sollten folgende Möglichkeiten der Deckung des Energiebedarfs für die ermittelte Sulfatreduktion berücksichtigt werden.

1. Sulfatreduktion mit H₂ aus syntropher Oxidation von Propionat, Butyrat, Valerat und Caproat
2. Sulfatreduktion mit H₂ aus syntropher Oxidation von Propionat, Butyrat, Valerat und Caproat und Acetat
3. Sulfatreduktion in direkter Kopplung an VFA-Oxidation (durch VFA-verwertende SRB)

Da hinsichtlich der theoretisch verfügbaren Energie für mikrobielle Sulfatreduktion die oben genannten Möglichkeiten 1 und 3 nicht maßgeblich voneinander abweichen, wird im folgenden nur Möglichkeit 1 für die Berechnungen berücksichtigt.

Die Messergebnisse deuteten darauf hin, dass durch Möglichkeit 1 in einigen Phasen der theoretische Energiebedarf gedeckt werden konnte, in anderen Phasen jedoch nicht ausreichend Energie bereitgestellt werden konnte (negative Werte in Abbildung 3.23). Unproblematisch wird die Bilanzierung hingegen dann, wenn die Möglichkeit zur Acetatnutzung gekoppelt an mikrobielle Sulfatreduktion als Fähigkeit im System vorhanden war.

Die in diesem Abschnitt dargestellten Daten wurden in Abschnitt 4.6 zur Modellbildung und zur Simulation des Prozesses verwendet. An dieser Stelle wird nochmals auf spezielle Aspekte des Versuchsverlaufs, die zur Herleitung der Modellstruktur wichtig waren, eingegangen werden.

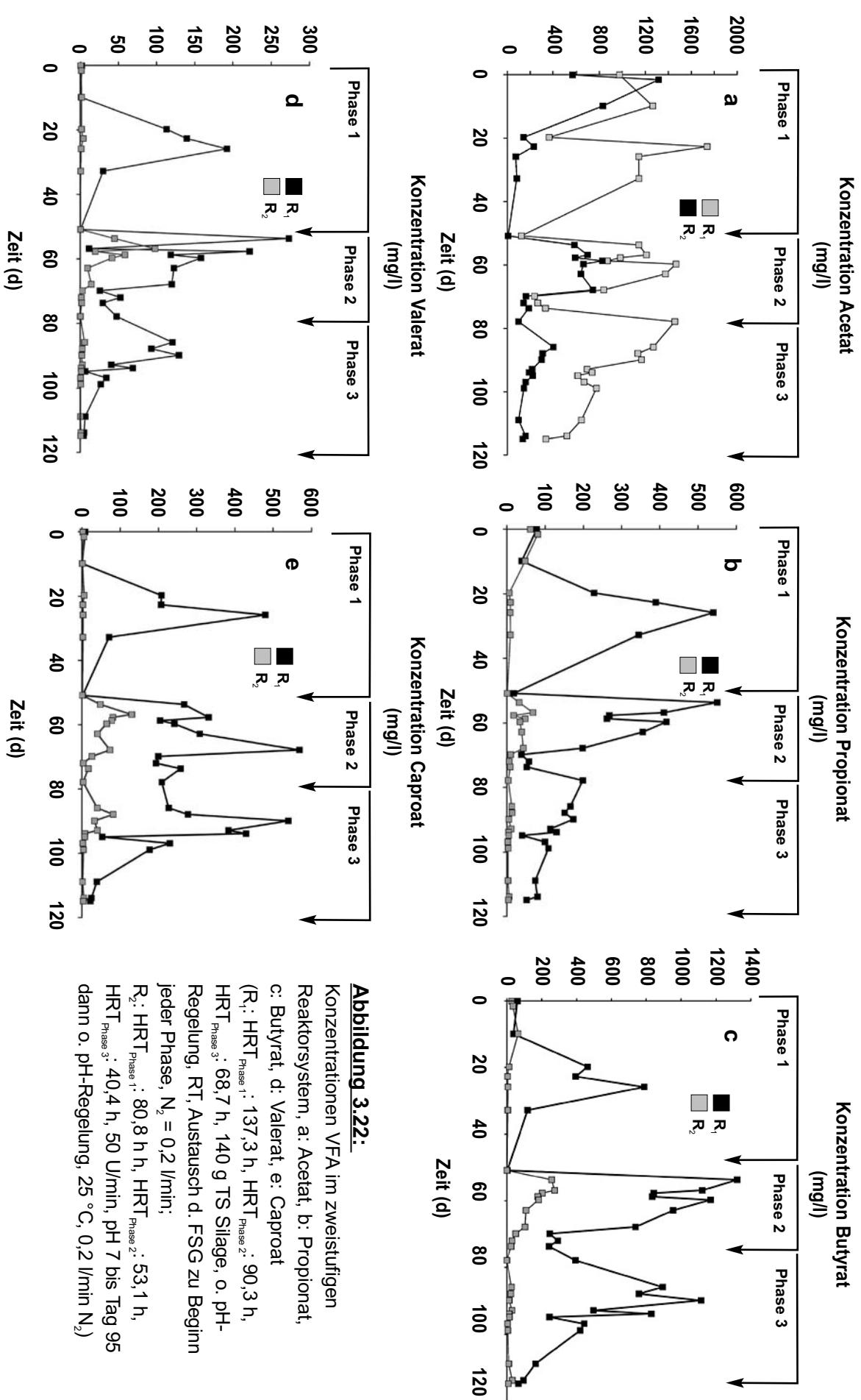


Abbildung 3.22:

Konzentrationen VFA im zweistufigen Reaktorsystem, a: Acetat, b: Propionat

c: Butyrat, d: Valerat, e: Caproat
 (B : HBT : 137 3 h HBT : 99

(R_i: HRT_{Phase 1}: 137,3 h, HRT_{Phase 2}: 90,3 h HRT_{Phase 3}: 68,7 h, 140 g TS Silage, o. pH

Regelung, RT, Austausch d. FSG zu Beginn

jeder Phase, $N_2 = 0,2 \text{ l/min}$;

R₂: HR I Phase 1: 80,8 h, HR Phase 2: 53,1 h, HRT Phase 3: 40,4 h, 50 U/min, pH 7 bis Tag 95 dann o. pH-Regelung, 25 °C, 0,2 l/min N₂)

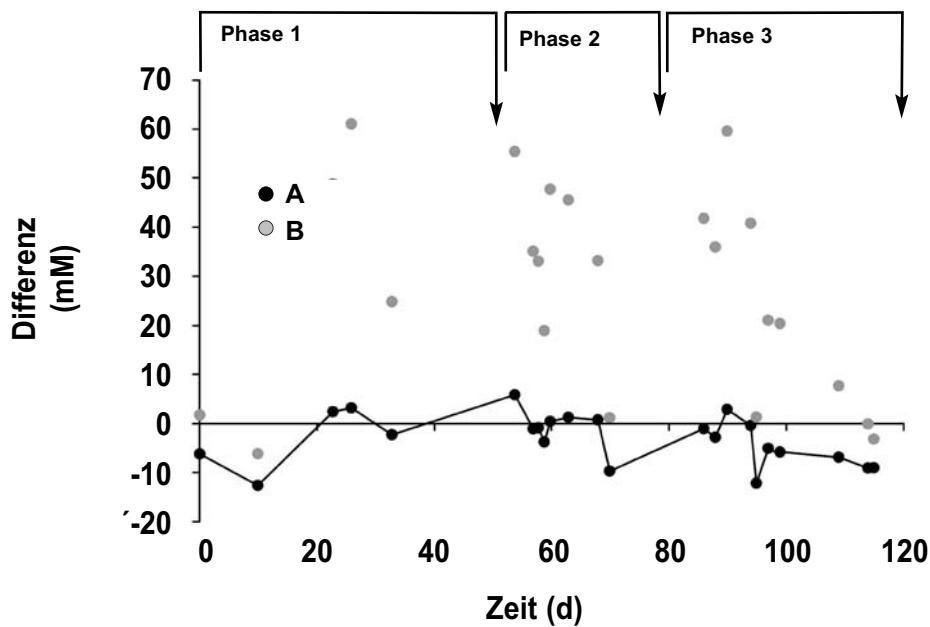


Abbildung 3.23:

Minderung der Sulfatkonzentration: Differenz aus theoretischem Wert und Messwert im zweistufigen Reaktorsystem, A: H_2 aus syntrophem Umsatz aus Propionat, Butyrat, Valerat und Caproat, B: H_2 aus syntrophem Umsatz aus Acetat, Propionat, Butyrat, Valerat und Caproat (R_1 : $\text{HRT}_{\text{Phase 1}}: 137,3 \text{ h}$, $\text{HRT}_{\text{Phase 2}}: 90,3 \text{ h}$, $\text{HRT}_{\text{Phase 3}}: 68,7 \text{ h}$, 140 g TS Silage, o. pH-Regelung, RT, Austausch d. FSG zu Beginn jeder Phase, $N_2 = 0,2 \text{ l/min}$;
 R_2 : $\text{HRT}_{\text{Phase 1}}: 80,8 \text{ h}$, $\text{HRT}_{\text{Phase 2}}: 53,1 \text{ h}$, $\text{HRT}_{\text{Phase 3}}: 40,4 \text{ h}$, 50 U/min, pH 7 bis Tag 95 dann o. pH-Regelung, 25 °C, $N_2 = 0,2 \text{ l/min}$)

3.4.5.3 Stabilisierung des Prozesses bei aufgezehrtem Festen Substanzgemisch (FSG)

Es sollte untersucht werden, welche Möglichkeiten zur Prozessstabilisierung in Phasen genutzt werden konnten, in denen das aufgezehrte FSG in R_1 (das kein Substrat mehr bereitstellen konnte) nicht rechtzeitig ausgetauscht wurde. Dabei sollte der Eingriff nur prozessunterstützend sein und mit Vorlage des frischen FSG unproblematisch zu beenden. Die entscheidenden Punkte, die beachtet werden mussten, waren zum einen die Aufrechterhaltung von Sulfatreduktion und Schwermetalleliminierung im Gesamtprozess, nach Möglichkeit in Fortführung der Trennung der Prozesse, und zum anderen eine Stabilisierung der Aktivität der unterschiedlichen Mikroorganismen im System. Es galt also, zum einen Substrat zur Sulfatreduktion bereitzustellen und zum anderen den pH-Wert in R_1 zu stabilisieren. Dieses Ziel wurde durch pH-Wert-Regelung im Umlauf von R_1 mittels Dosierung einer organischen Säure, 1N Milchsäure, angestrebt.

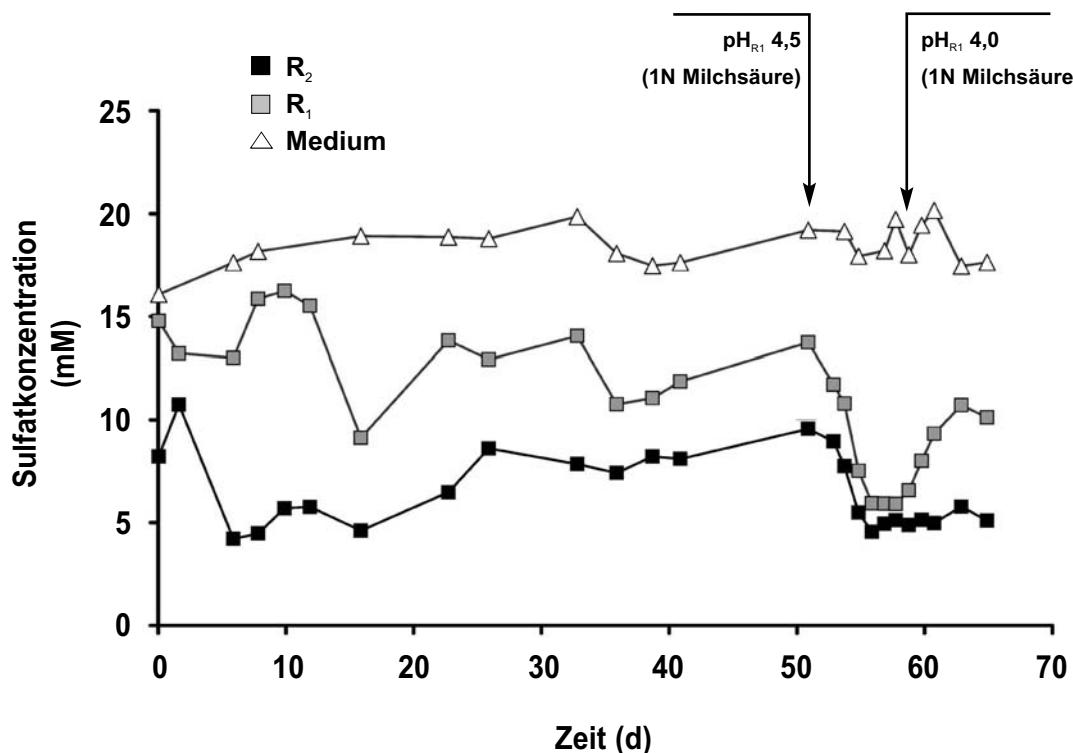


Abbildung 3.24:

Sulfatkonzentration im zweistufigen Reaktorsystem

(R₁: 140 g TS Silage, o. pH-Regelung, RT; kein Austausch d. FSG, ab Tag 52 pH-Regelung mit 1N Milchsäure, ab Tag 52 Begasung mit N₂ = 0,2 l/min, davor Begasung mit Druckluft = 0,1 l/min; R₂: pH 7 bis Tag 95 dann o. pH-Regelung, 50 U/min, 25 °C, 0,2 l/min N₂)

In den Abbildungen 3.24 und 3.25 sind die Veränderungen des Prozesses bezüglich der Sulfatreduktion im Anschluss an eine erste *normale* Versuchsphase mit Einsetzen der pH-Regelung dargestellt. Es wurde zunächst nach 52 Tagen der pH-Wert in R₁ durch Dosierung von Milchsäure auf pH 4,5 stabilisiert. In dieser Phase wurde die sich verschlechternde Sulfatreduktionseffizienz von ca. 50% auf 75% wieder verbessert, allerdings kam es zu einer deutlichen Senkung der Sulfatkonzentration bereits in R₁. In dieser Phase glichen die Konzentrationen in R₁ und R₂ sich nahezu an, R₂ trug nicht mehr maßgeblich zum Gesamtprozess bei, die gewünschte Trennung von R₁ und R₂ hinsichtlich der Sulfatreduktion konnte nicht aufrechterhalten werden und sank auf unter 5%. Mit einer weiteren Senkung des pH-Wertes in R₁ auf pH 4,0 konnte die Trennung jedoch ansatzweise wiederhergestellt werden, so dass bei Abbruch des Versuchs wieder eine Trennung der Sulfatreduktion zu 40% erreicht worden war. In dieser letzten Phase konnte dabei die vorherige Effizienz bei nahezu 70% beibehalten werden. Diese ersten Ergebnissen zur Prozessstabilisierung in Übergangsphasen zeigten somit, dass die Dosierung einer organischen Säure in R₁ als taugliche Strategie angesehen werden konnte, jedoch sollten andere Säuren, z.B. Propionsäure, auf bessere Eignung im Rahmen der Zielsetzung untersucht werden.

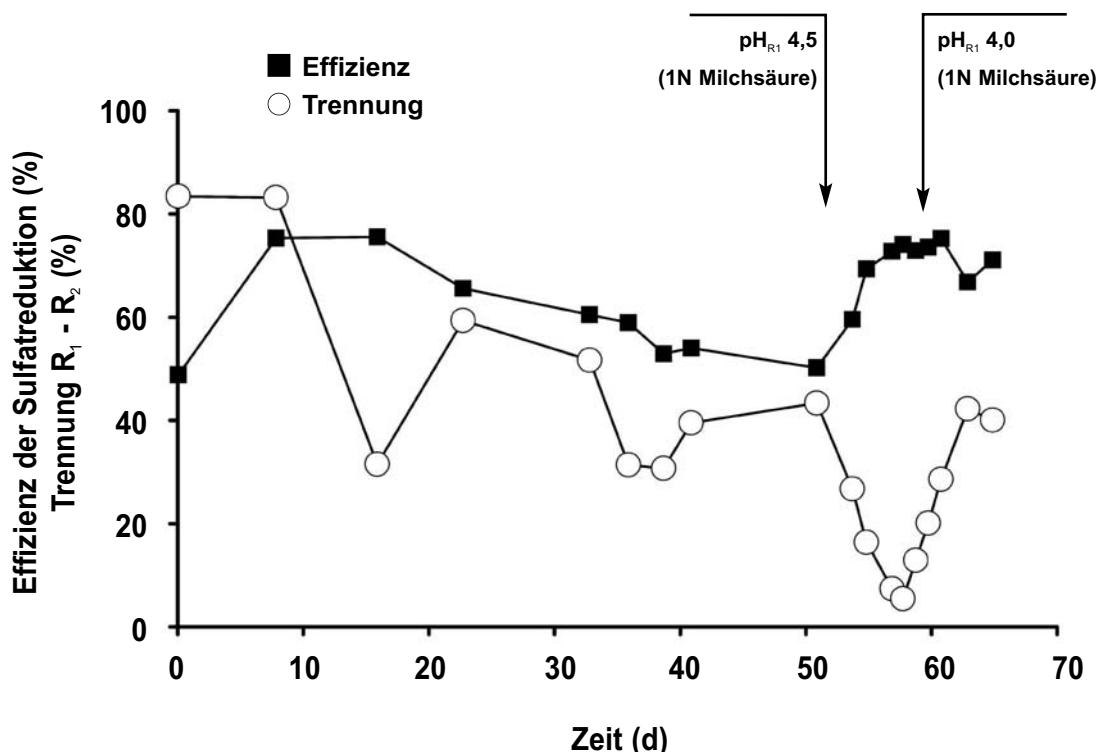


Abbildung 3.25:

Effizienz der Sulfatreduktion, Trennung der Stufen R_1 und R_2 im zweistufigen Reaktorsystem (R_1 : 140 g TS Silage, o. pH-Regelung, RT, kein Austausch d. FSG, ab Tag 52 pH-Regelung mit 1N Milchsäure, ab Tag 52 Begasung mit N_2 = 0,2 l/min, davor Begasung mit Druckluft = 0,1 l/min; R_2 : pH 7 bis Tag 95 dann o. pH-Regelung, 50 U/min, 25 °C, 0,2 l/min N_2)

3.4.5.4 Beeinflussung des Prozesses durch Schwermetalle

Die Verfahrensentwicklung zielte in erster Linie auf die Reinigung von Abwässern mit geringen Schwermetallkonzentrationen. Bei diesen Konzentrationen wurde zunächst vermutet, dass der toxische Einfluss der Schwermetallionen auf die anaerobe Mikrobiologie nicht zum Prozessversagen führen würde. Nichtsdestotrotz war eine maßgebliche Beeinflussung der Prozesse möglich, insbesondere in Verbindung mit den niedrigen pH-Werten in R_1 und, infolgedessen, einer starken Inhibierung der Mikroorganismen in dieser Stufe. Zur Untersuchung dieses Aspektes wurden zwei Versuchsstände parallel betrieben, wobei in einem der Ansätze das Medium SRM mit Ni(II), Cu(II), Zn(II), Mn(II) und Fe(III) in jeweiligen Konzentrationen von 0,2 mM (SM III) angereichert wurde. Vor der Versuchphase unter Zudosierung der Schwermetalle wurden beide Versuche zunächst als *normales* zweistufiges System betrieben, um bereits möglichst stabile Mischkulturen besonders in R_2 zu etablieren.

In Abbildung 3.26 sind zunächst die pH-Verläufe in R_2 des jeweiligen Versuchsansatzes beginnend zum Zeitpunkt der Schwermetalldosierung dargestellt, wobei keine maß-

geblichen Abweichungen der Prozessverläufe bezüglich dieser Variablen festgestellt wurden. Zunächst wurde in den ersten sechs Tagen der pH-Wert in R_2 auf pH 7,0 geregelt. Nach diesem Zeitraum kam es zum Ausfall der pH-Regelung infolge eines Störfalls und einem pH-Anstieg bis ca. pH 9,0. Kurzzeitig wurde daraufhin die Regelung erneut geschaltet, jedoch wiederum nach einem kurzen Zeitraum gestoppt. Ab diesem Zeitpunkt fand keine weitere pH-Regelung in R_2 statt. Der pH-Wert in beiden Versuchen stabilisierte sich bei ca. pH 8,5.

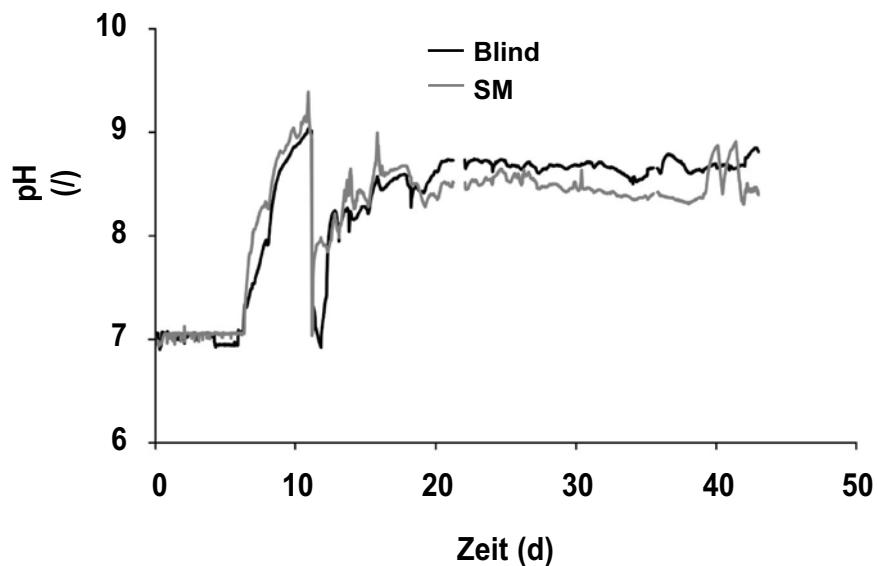
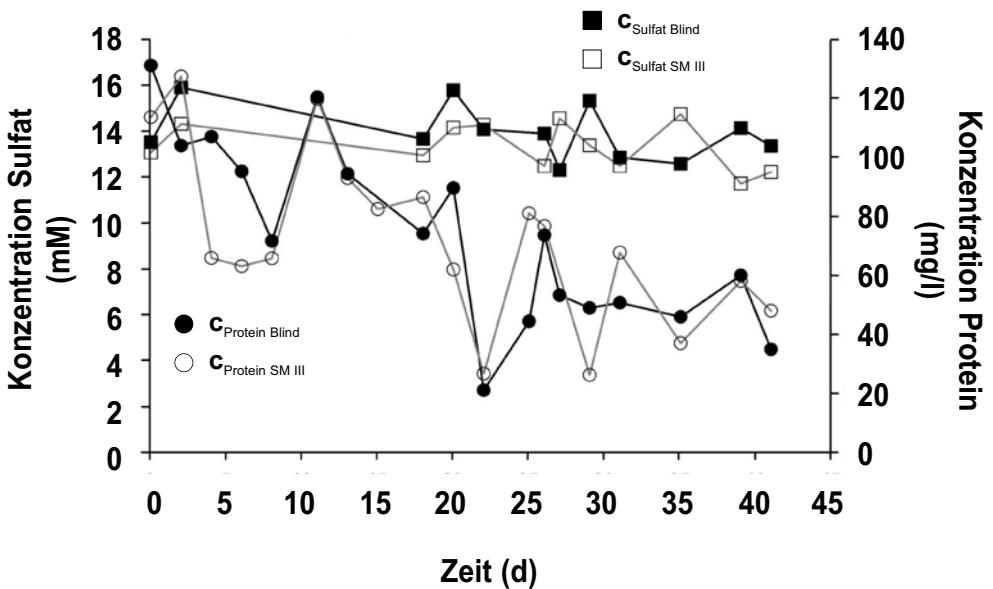


Abbildung 3.26:

pH-Wert R_2 im zweistufigen Reaktorsystem mit Medium SRM_{SM III}
(R_1 : HRT = 126,0 h, 50 g TS Silage, o. pH-Regelung, RT, kein Austausch d. FSG, 0,2 l/min N₂;
 R_2 : HRT = 67,8 h, pH 7 bis Tag 12 dann o. pH-Regelung, 50 U/min, RT, 0,2 l/min N₂)

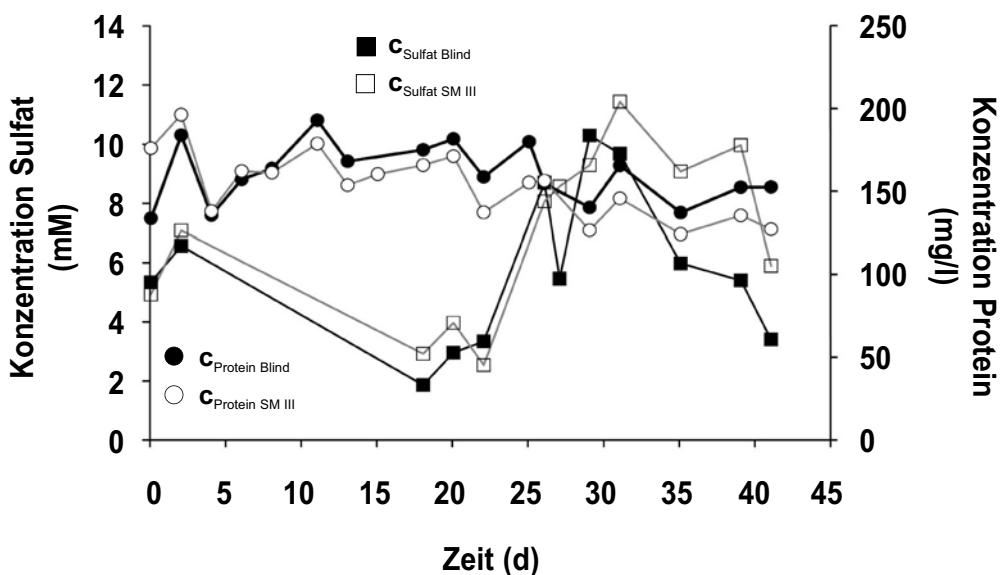
Wie in den Abbildungen 3.27 und 3.28 zu erkennen, wurde ähnliches zunächst für die Sulfatkonzentration und die Proteinkonzentration festgestellt. Weder die Sulfatkonzentrationen noch die Proteinkonzentrationen wiesen eindeutig erkennbare Unterschiede in den jeweiligen Stufen auf. Erst zum Ende des Versuches kam es zu deutlicheren Abweichungen, was jedoch auch auf technische Probleme (Füllstandsschwankungen in R_1) im Versuchsverlauf zurückgeführt werden konnte.

Es konnten keine signifikanten Abweichungen hinsichtlich der Schwermetallkonzentrationen im Ablauf von R_2 festgestellt werden (siehe Abbildung 3.29). Die Schwermetalle konnten also vollständig entfernt werden, wodurch die prinzipielle Eignung zur Schwermetalleliminierung aus einem Bergbauwässern gezeigt werden konnte. Die Konzentrationen von Kupfer und Zink lagen bei beiden Versuchen zu fast allen Zeitpunkten unterhalb der jeweiligen Nachweisgrenzen von 60 µg/l für Kupfer bzw. 30 µg/l für Zink (nicht dargestellt). Es wurden leicht erhöhte Nickelkonzentrationen von 221 µg/l und ebenso leicht erhöhte Mangankonzentrationen von 696 µg/l festgestellt im Ablauf von R_2 . Die Eisenkonzentrationen lagen im Ansatz mit zusätzlicher Schwermetaldosierung sogar leicht unterhalb der im Blindversuch mit nicht modifiziertem Medium SRM.

**Abbildung 3.27:**

Sulfatkonzentration und Proteinkonzentration in R_1 im zweistufigen Reaktorsystem mit Medium $SRM_{SM\ III}$

(R_1 : HRT = 126,0 h, 50 g TS Silage, o. pH-Regelung, RT, kein Austausch d. FSG, 0,2 l/min N_2 ;
 R_2 : HRT = 67,8 h, pH 7 bis Tag 12 dann o. pH-Regelung, 50 U/min, RT, 0,2 l/min N_2)

**Abbildung 3.28:**

Sulfatkonzentration und Proteinkonzentration in R_2 im zweistufigen Reaktorsystem mit Medium $SRM_{SM\ III}$

(R_1 : HRT = 126,0 h, 50 g TS Silage, o. pH-Regelung, RT, kein Austausch d. FSG, 0,2 l/min N_2 ;
 R_2 : HRT = 67,8 h, pH 7 bis Tag 12 dann o. pH-Regelung, 50 U/min, RT, 0,2 l/min N_2)

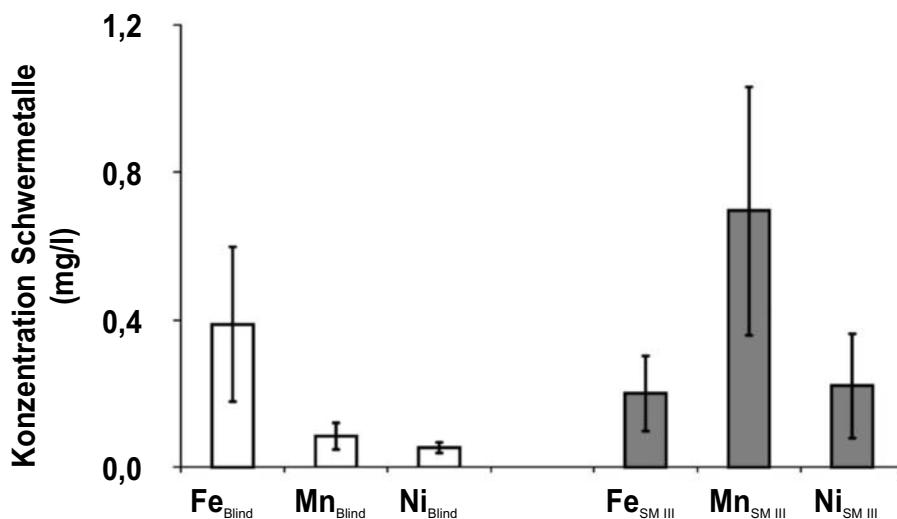


Abbildung 3.29:

Konzentration Schwermetalle Eisen, Mangan und Nickel in R₂ im zweistufigen Reaktorsystem mit Medium SRM_{SM III}
 (R₁: HRT = 126,0 h; 50 g TS Silage; o. pH-Regelung; RT; kein Austausch d. FSG, 0,2 l/min N₂;
 R₂: HRT = 67,8 h; pH 7 bis Tag 12 dann o. pH-Regelung; 50 U/min; RT; 0,2 l/min N₂)

3.5 Einfluss von Schwermetallsulfiden auf die technisch relevanten anaeroben Prozesse

3.5.1 Bedeutung für den technischen Prozess

Das Verfahrenskonzept für einen technischen Prozess sah vor, den anaeroben Reaktionsraum R₂ als Festbettreaktor zur simultanen Sulfatreduktion und Schwermetalleliminierung zu errichten. Obwohl die Schwermetallkonzentrationen in den möglichen Anwendungsbereichen in niedrigen Konzentrationen vorhanden sein würden, würden mit andauernder Laufzeit entsprechend dem zu behandelnden Abwasser erhebliche Mengen an Schwermetallsulfiden anfallen. Dies resultiert in erster Linie daher, dass R₂ für lange Zeiträume ohne Eingriffe betrieben werden soll. Das heißt, dass die Bildung von Präzipitaten zunächst zu einer Beschichtung des Festbettmaterials führt und nur zu einem Teil sedimentieren und diskontinuierlich abgezogen werden wird. Das relevante Festbett, möglicherweise Immobilisierungsmaterial, wird somit letztlich nicht das ursprünglich eingesetzte Festbettmaterial wie beispielsweise Kies oder Bimsstein sein, sondern eine Mischung aus metallsulfidischen Verbindungen. Obwohl aus Gründen der technischen Relevanz und der wenigen verfügbaren und widersprüchlichen Angaben in der Literatur zum Verhalten anaerober Mikroorganismen in Kontakt mit metallsulfidischen Fällungsprodukten bereits frühzeitig Versuche mit diesem Untersuchungsgegenstand geplant waren, stieg im Verlaufe der Entwicklungen das Interesse weiter an. Zu begründen ist dies vor allem dadurch, dass

- a) der Sulfatreduktionsprozess trotz der Komplexität des Systems gerade in Anwesenheit metallsulfidischer Schlämme im kontinuierlichen Versuch (R_2) erheblich optimiert werden konnte,
- b) die Optimierung lange Zeiträume benötigte, was möglicherweise in der Notwendigkeit der Ausbildung komplexer metabolischer Strukturen begründet lag. Diese hätten sich in diesem Falle in Anwesenheit der Metallsulfide gebildet.

3.5.2 Kultivierung mit organischen Säuren

Aus oben genannten Gründen wurde zunächst ein *Batch*-Versuch konzipiert und durchgeführt, wobei eine Kultur aus R_2 zunächst zwischeninkubiert wurde auf Medium SRM-Fe mit jeweils einer VFA (10 mM) und Lactat (40 mM) als Kohlenstoff- und Energiequelle. Nach Inkubation wurden mit unterschiedlichen VFA als Substrat Versuche in Anwesenheit von entweder NiS oder FeS durchgeführt. Dabei wurde die Schlammsuspension entweder direkt ins Medium oder in einem Dialyseeschlauch separat zugegeben. Mit dieser Untersuchung sollte festgestellt werden, ob es in Anwesenheit des Sulfidschlammes zusätzlich einen Unterschied für die Prozessverläufe machte, die Mikroorganismen in direktem Kontakt zu den Schlämmen zu kultivieren oder getrennt von diesen in Suspension. Die hierzu eingesetzten Schlämme sind vor Versuchsansatz über einen längeren Zeitraum unter einer H_2 -Atmosphäre aufbewahrt worden.

In Tabelle 3.12 sind die Ergebnisse zur Sulfatreduktion und Biomassevermehrung nach einer Inkubationszeit von 14 Tagen dargestellt. Es ist zu erkennen, dass sich die Ergebnisse in den unterschiedlichen *Batch*-Kulturen sowohl hinsichtlich Wachstum, d.h. Proteinzunahme, besonders aber auch hinsichtlich der Effizienz der Sulfatreduktion deutlich voneinander unterschieden. Die Unterschiede waren dabei einerseits beim Vergleich der Versuche mit FeS bzw. NiS zum Blindversuch zu erkennen, deutlichere Abweichungen wurden aber festgestellt beim Vergleich der jeweiligen Versuche FeS zu FeS_{Dialyse} und NiS zu NiS_{Dialyse}, wobei hinsichtlich Sulfatreduktion beide Versuche (NiS und FeS) mit Dialyseeschlauch ähnliche Ergebnisse lieferten. Sowohl mit FeS im Dialyseeschlauch als auch mit NiS im Dialyseeschlauch wurde in den jeweiligen Ansätzen mit allen untersuchten VFA außer Acetat eine Sulfatreduktionseffizienz größer 90% erreicht. Mit Acetat kam es immer noch zu einer Effizienz von 70%. Damit zeigte sich in Anwesenheit von Acetat eine Steigerung der Sulfatreduktionseffizienz um den Faktor 2,5 bis 3,0 im Vergleich zum Blindversuch, aber auch erhebliche Steigerungen gegenüber den Ansätzen ohne Dialyseeschlauch. Ähnlich konnte die Effizienz bei Zugabe der anderen VFA in den jeweiligen Versuchen NiS_{Dialyse} und FeS_{Dialyse} erheblich gegenüber dem Blindversuch und den Versuchen mit direkter Zugabe der Schlämme ins Medium gesteigert werden. Die Abweichungen der Sulfatreduktionseffizienz gegenüber dem Blindversuch bei direkter Zugabe der Schlämme ins Medium waren geringfügiger. In den meisten Fällen wurde jedoch eine nachteilige Wirkung auf die Sulfatreduktion festgestellt.

Tabelle 3.12:

Sulfatreduktion und Biomassewachstum, *Batch*-Kultivierung mit VFA in Anwesenheit von NiS und FeS in direktem Kontakt zu Mikroorganismen bzw. getrennt von Biomasse in Dialyseschlauch

(Kultivierung: 14 d, 30°C, V_L =30 ml, 2 ml Schlammsuspension)

| | | Konzentration Sulfat (mM) | Effizienz Sulfatreduktion (%) | Effizienz Sulfatreduktion Abweichung zu Blind (%) | Konzentration Protein (mg/l) | Konzentration Protein Abweichung zu Blind (%) |
|-----------|-------------|---------------------------|-------------------------------|---|------------------------------|---|
| Acetat | Blind | 14,06 | 18,24 | | 123,95 | |
| | NiS | 12,50 | 27,33 | 49,80 | 138,60 | 11,82 |
| | NiS Dialyse | 4,69 | 72,75 | 298,00 | 132,15 | 6,62 |
| | FeS | 11,04 | 35,80 | 96,28 | 93,45 | -24,61 |
| | FeS Dialyse | 5,50 | 68,02 | 272,91 | 117,50 | -5,20 |
| Propionat | Blind | 6,61 | 61,54 | | 58,28 | |
| | NiS | 12,29 | 28,54 | -53,63 | 84,81 | 45,52 |
| | NiS Dialyse | 0,10 | 99,39 | 61,50 | 142,90 | 145,20 |
| | FeS | 12,19 | 29,14 | -52,65 | 42,97 | -26,27 |
| | FeS Dialyse | 1,29 | 92,49 | 50,29 | 127,45 | 118,69 |
| Butyrat | Blind | 8,33 | 51,55 | | 128,25 | |
| | NiS | 7,01 | 59,24 | 14,92 | 67,58 | -47,31 |
| | NiS Dialyse | 0,76 | 95,58 | 85,41 | 112,35 | -12,40 |
| | FeS | 12,92 | 24,90 | -51,69 | 61,62 | -51,95 |
| | FeS Dialyse | 0,18 | 98,97 | 91,99 | 149,30 | 16,41 |
| Valerat | Blind | 6,66 | 61,30 | | 137,05 | |
| | NiS | 14,58 | 15,21 | -75,28 | 120,50 | -12,08 |
| | NiS Dialyse | 0,13 | 99,27 | 61,94 | 119,00 | -13,17 |
| | FeS | 3,75 | 78,20 | 27,56 | 94,60 | -30,97 |
| | FeS Dialyse | 1,29 | 92,49 | 50,88 | 154,30 | 14,05 |
| Caproat | Blind | 5,77 | 66,45 | | 151,50 | |
| | NiS | 7,23 | 57,97 | -12,76 | 122,50 | -19,14 |
| | NiS Dialyse | 1,44 | 91,64 | 37,91 | 146,70 | -3,17 |
| | FeS | 6,56 | 61,85 | -6,93 | 122,10 | -19,41 |
| | FeS Dialyse | 0,08 | 99,52 | 49,76 | 174,65 | 15,28 |

Abweichungen ergaben sich jedoch auch hinsichtlich des Verbrauchs der zugegebenen organischen Verbindungen. In Abbildung 3.30 sind die abschließend gemessenen Konzentrationen der jeweiligen VFA in den einzelnen Versuchen angegeben. Hier zeigten sich die deutlichsten Abweichungen zum Blindwert im Ansatz mit NiS im Dialyseschlauch. Im Ansatz mit NiS im Dialyseschlauch wurden die organischen Säuren wesentlich schlechter umgesetzt als im Blindansatz.

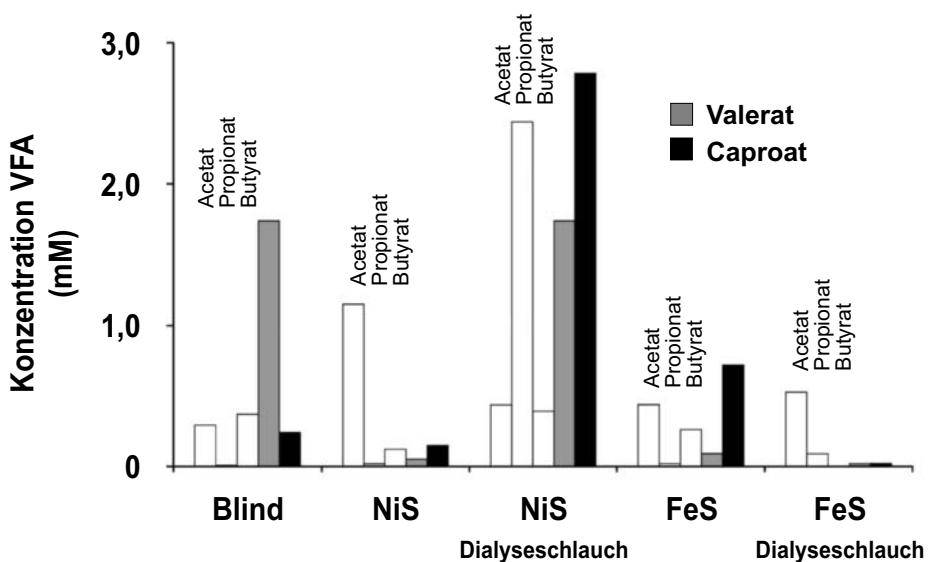


Abbildung 3.30:

Konzentration VFA, *Batch-Kultivierung mit VFA in Anwesenheit von NiS und FeS in direktem Kontakt zu Mikroorganismen bzw. getrennt von Biomasse in Dialyseschlauch*
(Kultivierung: 14 d, 30°C, $V_L=30$ ml, 2 ml Schlammsuspension)

Mit der Annahme, dass der Einfluss der sulfidischen Schlämme einheitlich auf alle anwesenden Mikroorganismen war und hydrogenogene fermentative Prozesse verlangsamt, potenziell hydrogenotrophe Prozesse jedoch unterstützt wurden, wurde die These aufgestellt, dass sulfidische Schlämme möglicherweise die Verfügbarkeit von molekularem Wasserstoff verändern und dass die Veränderung dieser Verfügbarkeit eine Funktion des Abstands der Bakterien von der Oberfläche ist. Die Grundnahmen der These werden im folgenden Abschnitt im Rahmen eines Exkurses dargestellt.

3.5.3 Exkurs

3.5.3.1 These und Modellbildung

Es kann angenommen werden, dass die *Freie Reaktionsenthalpie* ΔG^0 vieler relevanter biologisch katalysierter Reaktionen in anaeroben Systemen (z.B. fermentativer Abbau organischer Verbindungen) eine Funktion des Wasserstoffpartialdruckes ist und viele Reaktionen nur bei sehr geringem Wasserstoffpartialdruck exergon sind. In bisherigen Veröffentlichungen wurde davon ausgegangen, dass in mikrobiologischen Systemen eine direkte Kopplung einer wasserstoffproduzierenden an eine wasserstoffzehrende Reaktion (z.B. Sulfat-reduktion) notwendig ist, um die wasserstoffproduzierende Reaktion exergon zu machen. Andererseits bestimmt die H_2 -Konzentration die Art der terminalen elektronen-akzeptierenden Reaktion. So wurde beispielsweise z.B. für Methanogenese eine stationäre H_2 -Konzentration von $23,0 \pm 0,6$ nM und für Sulfatreduktion eine stationäre H_2 -Konzentration von $1,64 \pm 0,14$ nM in Versuchen mit anaeroben Sedimenten festgestellt [Hoehler et al. 1998].

In Ableitung aus den in Abschnitt 3.5.2 dargestellten Ergebnissen wird ein System vorgeschlagen, für das sich Kopplung der Reaktionen und Positionierung der metabolisch aktiven Mikroorganismen wegen der Anwesenheit metallsulfidischer Präzipitate grundlegend von Prozessen in Suspension unterscheiden.

Es wird also angenommen, dass Folgendes zutrifft:

1. In relevanten natürlichen und technischen Systemen sind anorganische Verbindungen vorhanden, die erhebliche Oberflächen ausbilden und eine Affinität gegenüber Wasserstoff (H_2) besitzen. Die Verbindungen sind metallsulfischen Typs und ubiquitär.
2. Diese Oberflächen bewirken die Ausbildung diffusions- und adsorptionsinduzierter Wasserstoffgradienten.
3. Es finden im Anschluss an die Adsorption von H_2 an der Oberfläche keine chemischen Reaktionen statt (hohe Aktivierungsenergie), die die Adsorption als Chemisorption kennzeichnen könnten. Der Mechanismus ist eine Physisorption, und eine Desorption von molekularem Wasserstoff findet potenziell statt.
4. Durch Ausbildung des Gradienten und die prinzipielle Reversibilität der Physisorption ist die chemische Funktion der Verbindungen die eines heterogenen Katalysators, eines Wasserstoffakkumulators und eines Reaktionskopplers mikrobieller Reaktionen in anaeroben Systemen.
5. Diese metallsulfidischen Verbindungen sind unlöslich und wirken, als Matrix, strukturgebend in Systemen, die als Biofilme bezeichnet werden können.

3.5.3.2 Modellstrukturierung

In Lösung finden H_2 -produzierende mikrobielle Reaktionen (z.B. Fermentation bei Anwesenheit eines entsprechenden Substrates) im Abstand Z_B von der metallsulfidischen Oberfläche statt, H_2 -zehrende Reaktionen im Abstand Z_A . Für die metallsulfidische Oberfläche gilt $Z_0 = 0$ (Abbildung 3.31a).

An der metallsulfidischen Oberfläche finden eine substanzspezifische Adsorption von H_2 (A_{H2}) mit der Adsorptionsrate $r_{A,H2}$ und Desorption von H_2 (D_{H2}) mit der Desorptionsrate $r_{D,H2}$ statt. Die für die mikrobiellen Reaktionen essenzielle lokale Wasserstoffkonzentration $c_{H2,x}$ könnte sich dann mit andauernder Adsorption und Desorption von H_2 in Verbindung mit der Diffusion von H_2 signifikant als Funktion des Abstands von der metallsulfidischen Oberfläche unterscheiden, da davon ausgängen werden muss, dass der rein chemisch-physikalische Sorptionsprozess um Größenordnungen schneller verläuft als etwaige (konkurrierende) biologische Prozesse (z.B. $r_{A,H2} \gg r_{H2,SRB}$). Bedingt durch Adsorption und Desorption und verstärkt durch Diffusion von H_2 würde so auch eine Strukturierung der metabolisch aktiven, H_2 -abhängigen Biomasse stattfinden und ebenso eine Kopplung H_2 -abhängiger Prozesse vermittelt durch eine katalytisch wirksame, H_2 -akkumulierende Oberfläche (Abbildung 3.31b).

Zwischen Z_A und Z_B bzw. zwischen Z_B und Z_0 bildet sich also eine Konzentrationsdifferenz hinsichtlich c_{H2} aus, die eine Diffusion von H_2 antreibt, wobei anzunehmen ist, dass der Gradient zwischen den Koordinaten der H_2 -produzierenden Reaktion im Abstand Z_B und der metallsulfidischen Oberfläche Z_0 relevanter ist. Während im Abstand Z_B die Bedingungen für

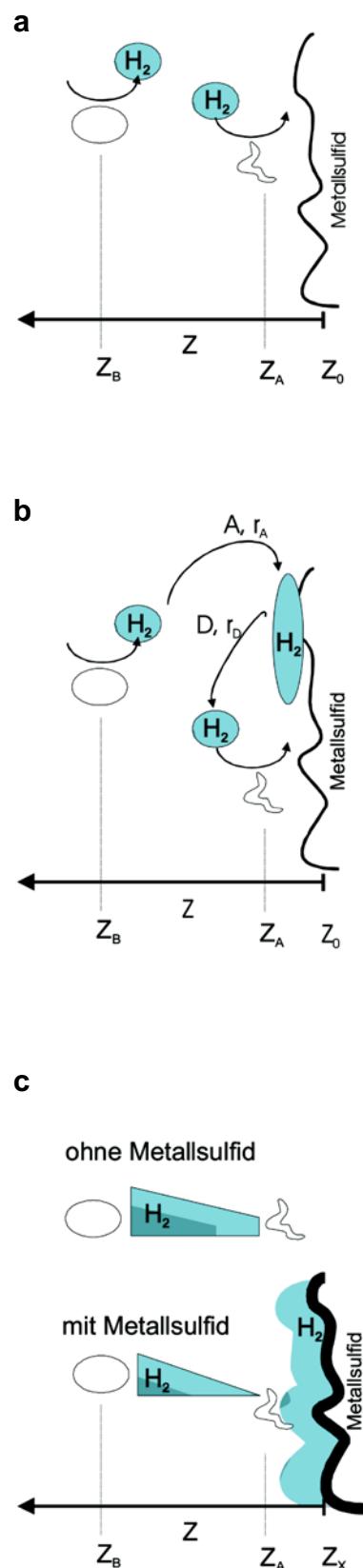


Abbildung 3.31:
Schema zur Modellvorstellung und -strukturierung

H_2 -produzierende Reaktionen aufrechterhalten werden, können H_2 -zehrende Reaktionen, z.B. Sulfatreduktion, im Abstand Z_A von der Oberfläche entweder infolge einer beschleunigten Fermentation unter Nutzung der Reaktionsprodukte oder auch infolge der Desorption von H_2 bei entsprechender Oberflächenbeladung Θ (evtl. auch bei einer Veränderung der Oberfläche, Schlammalterung) stattfinden. Adsorptionsrate $r_{A,H2}$ und Desorptionrate $r_{D,H2}$ stehen im Gleichgewicht, jedoch ist resultierend aus der H_2 -Akkumulation $c_{H2,x}$ im Abstand Z_A signifikant höher als im Abstand Z_B .

3.5.3.3 Modellierung und Simulation

Dem Modell lag die räumliche Vorstellung zugrunde, dass biogene metallsulfidische Präzipitate vor Einsetzen von Schlammalterungsprozessen als amorphe Strukturen feindispers in der wässrigen Phase suspendiert sind. Es bilden sich, idealisiert, kugelförmige Reaktionsräume um ein sulfidisches Zentrum (z.B. $[FeNi]-S$) mit zunehmendem Abstand Z aus. Die kugelförmige Geometrie wurde nochmals entsprechend Abbildung 3.32 vereinfacht, wobei die räumlichen Konstanten der kugelförmigen Vorstellung entsprechend gewählt wurden (vgl. Tabelle 3.13).

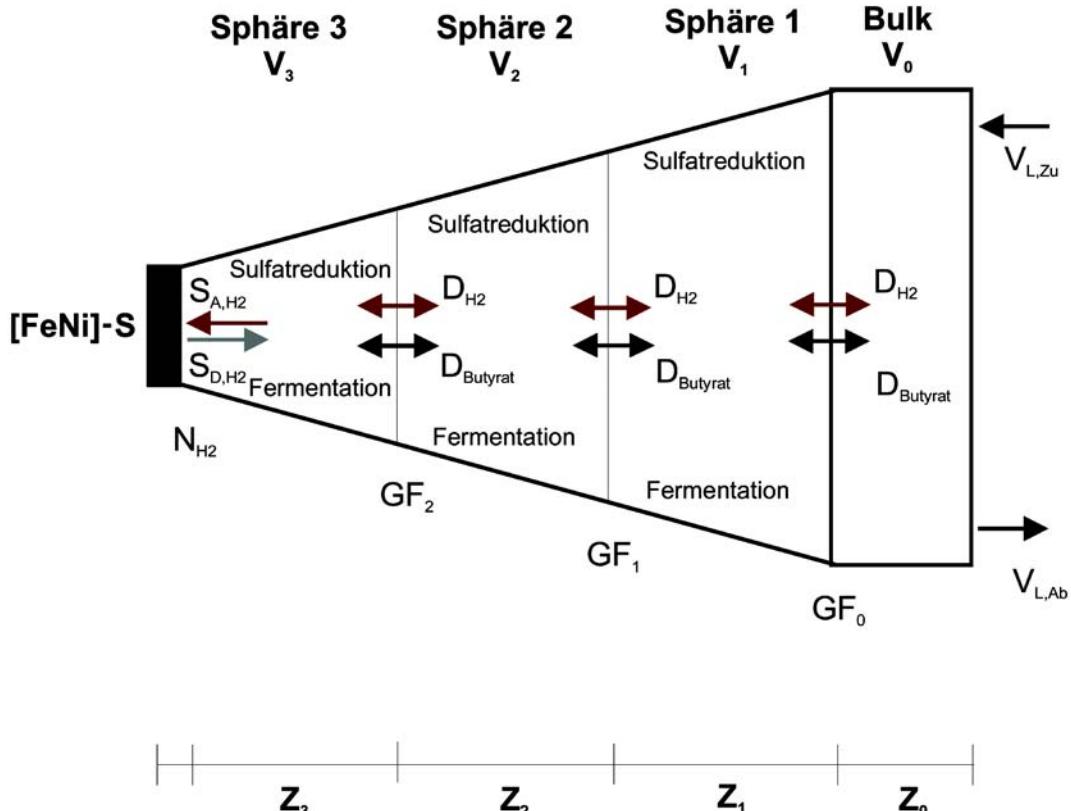


Abbildung 3.32:
Schema zur Modellstruktur

Es wurde angenommen, dass die sulfidische Oberfläche $500 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1} \text{ TS}$ beträgt [Watson et al. 1995], lediglich $1 \text{ mg l}^{-1} \text{ TS}$ vorhanden ist, der Durchmesser eines einzelnen sulfidischen Partikels 10^{-5} m beträgt, somit $1,6 \cdot 10^9 \text{ Partikel l}^{-1}$ vorhanden sind. Die jeweiligen Abstände der gradienteninduzierten Reaktionszonen Z_1 bis Z_3 wurden mit jeweils $1,25 \cdot 10^{-5} \text{ m}$ festgelegt. In der Simulation wurden die Berechnungen auf das Gesamtvolumen des Reaktors, nicht auf die einzelnen kugelförmigen Elemente bezogen. In jeder Sphäre besteht theoretisch die Möglichkeit hydrogenogener und hydrogenotroper mikrobiell katalysierter Reaktionen in Abhängigkeit von Substrat-, Produkt- und Biomassekonzentrationen. Es wurde aus Gründen der Vereinfachung bei der Simulation (Abb. 3.33 bis 3.34) jeweils eine konstante Biomassekonzentration angenommen, d.h. dass Wachstum und Absterben bzw. Diffusion von Biomasse über die einzelnen Phasengrenzen im Gleichgewicht stehen. Als Beispiele wurden der fermentative syntrophe Umsatz von Butyrat und mikrobielle Sulfatreduktion ausgewählt. Die Konzentration relevanter Moleküle ist diffusions- und adsorptionsbestimmt. Das Modell beschreibt bezogen auf die Substratdosierung einen kontinuierlichen Prozess, wobei ein Volumen V_0 mit einem Volumenstrom F_L ausgetauscht wird.

Gleichungssysteme

Die Wasserstoffkonzentration c_{H_2} in den einzelnen Zonen ist zunächst bestimmt durch den H_2 -Transfer über die einzelnen Grenzflächen mit dem Diffusionskoeffizienten D_{H_2} sowie durch die Nettobildungsrate r_{H_2} infolge mikrobieller Stoffumsätze. Sie kann wie folgt beschrieben werden:

$$\frac{\partial c_{H_2}}{\partial t} = D_{H_2} \cdot \frac{\partial^2 c_{H_2}}{\partial Z_x^2} + r_{H_2} \quad \text{Gleichung 3.1}$$

Randwerte:

$$\frac{dc_{H_2}}{dZ_x} = 0 \quad (Z = 0)$$

$$c_{H_2} = c_{H_2, V_0} \quad (Z = \sum Z_x)$$

Die partielle Differentialgleichung (Gleichung 3.1) kann aufgrund der vereinfachenden Annahmen für die einzelnen Reaktionszonen Sphäre 1 und Sphäre 2 formuliert werden als:

$$\frac{(GF_{x-1}+GF_x)}{2} \cdot Z_x \cdot \frac{dc_{H_2,x}}{dt} = GF_x \cdot D_{H_2} \cdot \frac{(c_{H_2,x-1} - 2c_{H_2,x} + c_{H_2,x+1})}{Z_x} + r_{H_2,x} \cdot \frac{(GF_{x-1}+GF_x)}{2} \cdot Z_x$$

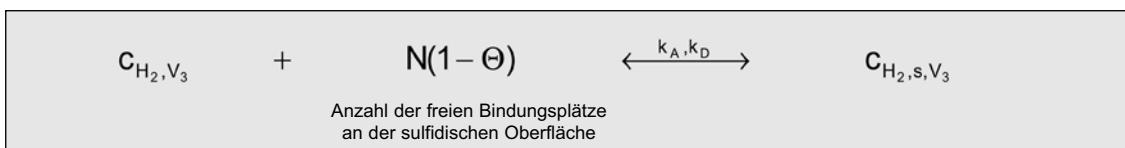
Gleichung 3.2

Zusätzlich wird c_{H_2} in der *Bulk*-Phase V_0 bestimmt durch die Wasserstoffkonzentration im Zulauf $c_{H_2,zu}$ (Gleichung 3.3).

$$\frac{dc_{H_2,x}}{dt} = \frac{F_{zu}}{V_0} \cdot (c_{H_2,zu} - c_{H_2,V_0}) - GF_x \cdot D_{H_2} \cdot \frac{(c_{H_2,x-1} - c_{H_2,x})}{Z_x}$$

Gleichung 3.3

Die Wasserstoffkonzentration c_{H_2} in Sphäre 3, d.h. innerhalb der Reaktionszone, die an die sulfidische Oberfläche angrenzt, wird zusätzlich durch die postulierte sorptive Aktivität der Oberfläche gegenüber H_2 bestimmt. Es kann dabei angenommen werden, dass die Reaktionsraten k_{A,H_2} und k_{D,H_2} für H_2 -Sorption und H_2 -Desorption wesentlich über denen der biologischen Reaktionen liegen. c_{H_2,V_3} steht also im Gleichgewicht zur Konzentration an adsorbiertem Wasserstoff c_{H_2,s,V_3} . Die Reaktion kann beschrieben werden entsprechend Gleichung 3.4 und 3.5.



Gleichung 3.4

Daraus folgt:

$$k_A \cdot c_{H_2,V_3} \cdot N(1 - \Theta) = k_D \cdot c_{H_2,s,V_3}$$

Gleichung 3.5

Es gilt dabei:

$$c_{H_2,V_3} + c_{H_2,s,V_3} = c_{H_2,tot,V_3}$$

Gleichung 3.6

$$c_{H_2,s,V_3} = N \cdot \Theta$$

Gleichung 3.7

Aus den Gleichungen 3.5 bis 3.7 folgt für den Bedeckungsgrad Θ der Oberfläche:

$$\Theta = \frac{k_{A,H_2} \cdot N + k_{D,H_2} + k_{A,H_2} \cdot c_{H_2, \text{tot}, V_3} - \sqrt{-4 \cdot k_{A,H_2}^2 \cdot N \cdot c_{H_2, \text{tot}, V_3} + (-k_{A,H_2} \cdot N - k_{D,H_2} - k_{A,H_2} \cdot c_{H_2, \text{tot}, V_3})^2}}{2 \cdot k_{A,H_2} \cdot N}$$

Gleichung 3.8

Die Rate des H_2 -Umsatzes $r_{H_2,x}$ ergibt sich, wie oben angedeutet, aus Raten zum fermentativen Umsatz von Butyrat und zur mikrobiellen Sulfatreduktion (Gleichung 3.9) entsprechend den Reaktionsgleichungen 3.10 und 3.12.

$$r_{H_2,x} = -(r_{Bu,x} \cdot 2 - r_{SO_4,x}) \quad \text{Gleichung 3.9}$$

Die Berechnung der Butyrat-Konzentration in den unterschiedlichen Sphären erfolgt analog der Berechnung der H_2 -Konzentration mit Ausnahme des sorptiven Terms. Eine mögliche Aktivität der sulfidischen Oberflächen gegenüber Butyrat bleibt unberücksichtigt. Die Kinetik des syntrophen Umsatzes von Butyrat (Gleichung 3.11) kann durch ein erweitertes Monod-Modell beschrieben werden, in dem berücksichtigt wird, dass die Reaktion abhängig von der Wasserstoffkonzentration ist und der Stoffumsatz nur bei niedrigen Wasserstoffkonzentrationen energetisch möglich ist. Der Inhibitionsterm wurde mit Festlegung der Konstanten K_{I,H_2} so angelegt, dass die Reaktion nur abläuft, wenn $\Delta G' \leq -20 \text{ kJ} \cdot \text{Mol}^{-1}$ ist.



$$r_{Bu,x} = -\frac{\mu_{\max, Bu} \cdot X_{Bu,x} \cdot c_{H_2,x} \cdot \left(1 - \frac{\Gamma}{K_{I,H_2}}\right)}{K_{S,Bu} + c_{H_2,x} \cdot \left(1 + \frac{\Gamma}{K_{I,H_2}}\right)} \quad \text{Gleichung 3.11}$$

mit

$$\Gamma = \frac{c_{Ac}^2 \cdot c_{H^+} \cdot c_{H_2}^2}{c_{Bu}} \quad [\text{nach Hoh und Cord-Ruwisch 1996}]$$

Die Kinetik der hydrogenotrophen Sulfatreduktion (Gleichung 3.13) wird ebenfalls durch ein Monod-Modell beschrieben. Ein Inhibierungsterm wurde an dieser Stelle nicht berücksichtigt.



$$r_{\text{SO}_4,x} = -\frac{1}{4} \cdot \frac{\mu_{\max,\text{SO}_4} \cdot X_{\text{SO}_4,x} \cdot c_{\text{H}_2,x}}{(K_{\text{S},\text{H}_2} + c_{\text{H}_2,x})} \quad \text{Gleichung 3.13}$$

In den Abbildungen 3.33 a-c und 3.34 a-c wurde basierend auf dem oben entwickelten Modell ein simulierter Versuchsverlauf mit speziellen Anfangsbedingungen dargestellt. In Simulation 1 (jeweils Graph 1) wurde die Anwesenheit einer katalytisch aktiven Oberfläche angenommen, die die Fähigkeit hat, H_2 reversibel zu binden und zu Versuchsbeginn unbeladen ist. In Simulation 2 (jeweils Graph 2) wurde, unter ansonsten gleichen Bedingungen, keine sorptive Aktivität berücksichtigt. Der Einfluss dieser vermuteten Aktivität in Simulation 1 wurde beispielhaft an der Konzentration an gelöstem H_2 und an den Umsatzraten für Butyrat in den einzelnen Reaktionszonen dargestellt. Es wurde deutlich, dass aufgrund einer sorptiven Aktivität der Oberfläche in der angrenzenden Reaktionszone (Sphäre 3) eine sehr niedrige H_2 -Konzentration zu erwarten war. Diese H_2 -Limitierung war eindeutig adsorptionsinduziert und hing nicht von der Diffusion von H_2 durch die einzelnen Zonen ab, wie die vergleichende Simulation zeigte. Aus den Abbildungen 3.33 a-c ist zu erkennen, dass die Aktivität der Oberfläche mit zunehmendem Abstand irrelevant wurde für die lokale H_2 -Konzentration. In Sphäre 1 und Sphäre 2 war diese vorrangig abhängig von der H_2 -Diffusion bzw. von Bildung und Verbrauch von H_2 durch mikrobielle Reaktionen. Unter Verwendung einfacher Gleichungssysteme wurde hier also ein System beschrieben, das die Ausbildung von Reaktionszonen bewirkte, die vollkommen unterschiedliche Bedingungen für mikrobielle, H_2 -abhängige Reaktionen boten. Die theoretischen Auswirkungen auf eine hydrogenogene Reaktion am Beispiel der syntrophen Fermentation von Butyrat ist in den Abbildungen 3.34 a-c dargestellt. Diese Reaktion wird erst bei sehr niedrigen H_2 -Konzentrationen exergon und damit durch steigende H_2 -Konzentrationen inhibiert. Bei Berücksichtigung einer aktiven Oberfläche wurde unter den gewählten Anfangsbedingungen über den gesamten Zeitraum in direkter Nähe zur Oberfläche eine wesentliche höhere Umsatzrate erzielt als im übrigen System. Mit zunehmendem Abstand von der Oberfläche verlangsamte sich der Abbau infolge der Diffusion von H_2 aus der Bulk-Phase V_0 .

Tabelle 3.13:

Formelzeichen und Abkürzungen („/“ bedeutet keine Angabe oder variable Werte)

| Zeichen | Bedeutung | Wert | Einheit | Bemerkungen | Quelle |
|-----------------|--|-------------------------|-----------------------------------|--|--------------------|
| C_{Ac} | Konzentration Acetat | / | mM | / | / |
| C_{Bu} | Konzentration Butyrat | / | mM | / | / |
| C_{H^+} | Konzentration H^+ | / | M | / | / |
| C_{H_2} | Konzentration H_2 | / | mM | / | / |
| $C_{H_2,s,V3}$ | Konzentration H_2 adsorbiert | / | mM | / | / |
| $C_{H_2,ot,V3}$ | Konzentration H_2 gesamt in Sphäre 3 | / | mM | / | / |
| C_{SO4} | Konzentration Sulfat | / | mM | / | / |
| D_{Bu} | Diffusionskoeffizient Butyrat | $1,2 \cdot 10^{-8}$ | $m^2 \cdot h^{-1}$ | / | / |
| D_{H_2} | Diffusionskoeffizient H_2 | $3,9 \cdot 10^{-8}$ | $m^2 \cdot h^{-1}$ | / | / |
| F_{Ab} | Volumenstrom Ablauf | / | $l \cdot h^{-1}$ | / | / |
| F_{zu} | Volumenstrom Zulauf | / | $l \cdot h^{-1}$ | / | / |
| GF_0 | Grenzfläche Bulk-Sphäre 1 | 36,125 | m ² | $4 \cdot \pi \cdot (Z_1 + Z_2 + Z_3)^2$ | / |
| GF_1 | Grenzfläche Sphäre 1 - Sphäre 2 | 18,0 | m ² | $4 \cdot \pi \cdot (Z_2 + Z_3)^2$ | / |
| GF_2 | Grenzfläche Sphäre 2 - Sphäre 3 | 6,125 | m ² | $4 \cdot \pi \cdot (Z_3)^2$ | / |
| k_{A,H_2} | Adsorptionskonstante H_2 | 1000 | $mmol \cdot l^{-1} \cdot h^{-1}$ | / | / |
| k_{D,H_2} | Desorptionskonstante H_2 | 1 | $mmol \cdot l^{-1} \cdot h^{-1}$ | / | / |
| K_{i,H_2} | Inhibierungsfaktor | $1,0828 \cdot 10^{-12}$ | | Gleichgewichtskonstante ($\Delta G' = -20 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$) | nach [Thauer 1977] |
| $K_{S,Bu}$ | Halbsättigungskonst. Fermentation | $8,3 \cdot 10^{-2}$ | mM | / | [Mosey 1983] |
| $K_{S,SO4}$ | Halbsättigungskonst. Sulfatreduktion | $1,4 \cdot 10^{-3}$ | mM | / | [Lovley 1988] |
| N_{H_2} | Bindungsplätze mmol / V_3 | 20000 | $mmol \cdot l^{-1}$ | / | / |
| r_{Bu} | Umsatzrate Butyrat | / | / | / | / |
| r_{H_2} | Umsatzrate H_2 | / | / | / | / |
| r_{SO4} | Umsatzrate Sulfat | / | / | / | / |
| V_1 | Volumen Sphäre 1 | $3,3 \cdot 10^{-4}$ | $m^3 \cdot l^{-1}$ | $4/3 \cdot \pi \cdot (Z_1 + Z_2 + Z_3)^3$ | / |
| V_2 | Volumen Sphäre 2 | $1,4 \cdot 10^{-4}$ | $m^3 \cdot l^{-1}$ | $4/3 \cdot \pi \cdot (Z_2 + Z_3)^3$ | / |
| V_3 | Volumen Sphäre 3 | $3,0 \cdot 10^{-5}$ | $m^3 \cdot l^{-1}$ | $4/3 \cdot \pi \cdot (Z_3)^3$ | / |
| V_0 | Reaktorvolumen | 1,0 | l | / | / |
| x | $x = (V_0, V_1, V_2, V_3, Zu)$ | / | / | / | / |
| $X_{Bu,x}$ | Biomasse Fermentation | / | mg | / | / |
| $X_{SO4,x}$ | Biomasse Sulfatreduktion | / | mg | / | / |
| Z_1 | Abstand | $1,25 \cdot 10^{-5}$ | m | / | / |
| Z_2 | Abstand | $1,25 \cdot 10^{-5}$ | m | / | / |
| Z_3 | Abstand | $1,25 \cdot 10^{-5}$ | m | / | / |
| Z_0 | Abstand | $1,25 \cdot 10^{-5}$ | m | / | / |
| Θ | Bedeckungsgrad | / | / | / | / |
| $\mu_{max,Bu}$ | maximale Rate Fermentation | $2,9 \cdot 10^{-3}$ | $mmol \cdot mg^{-1} \cdot h^{-1}$ | / | [Mosey 1983] |
| $\mu_{max,SO4}$ | maximale Rate Sulfatreduktion | $6,6 \cdot 10^{-3}$ | $mmol \cdot mg^{-1} \cdot h^{-1}$ | / | [Lovley 1988] |

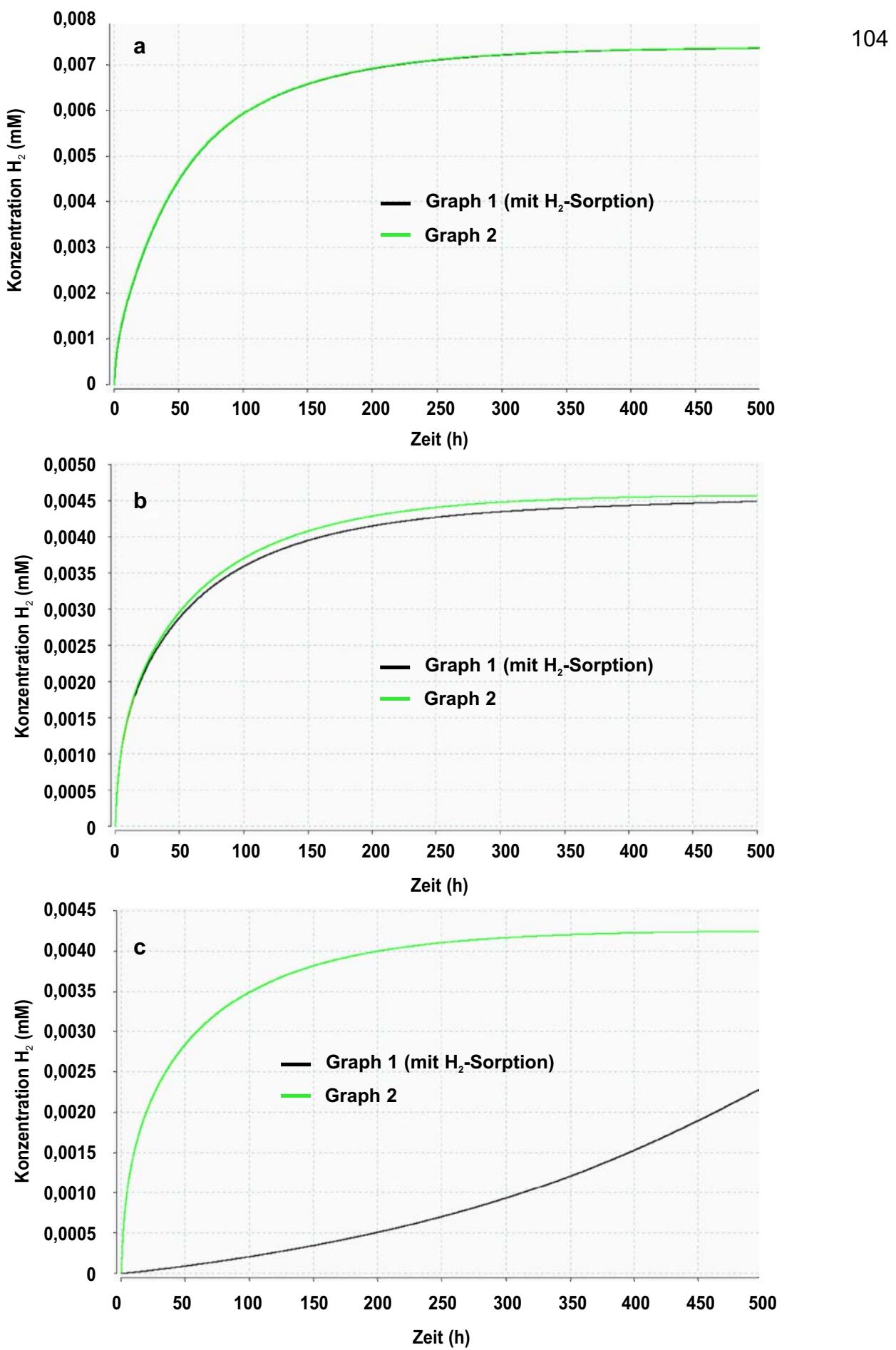
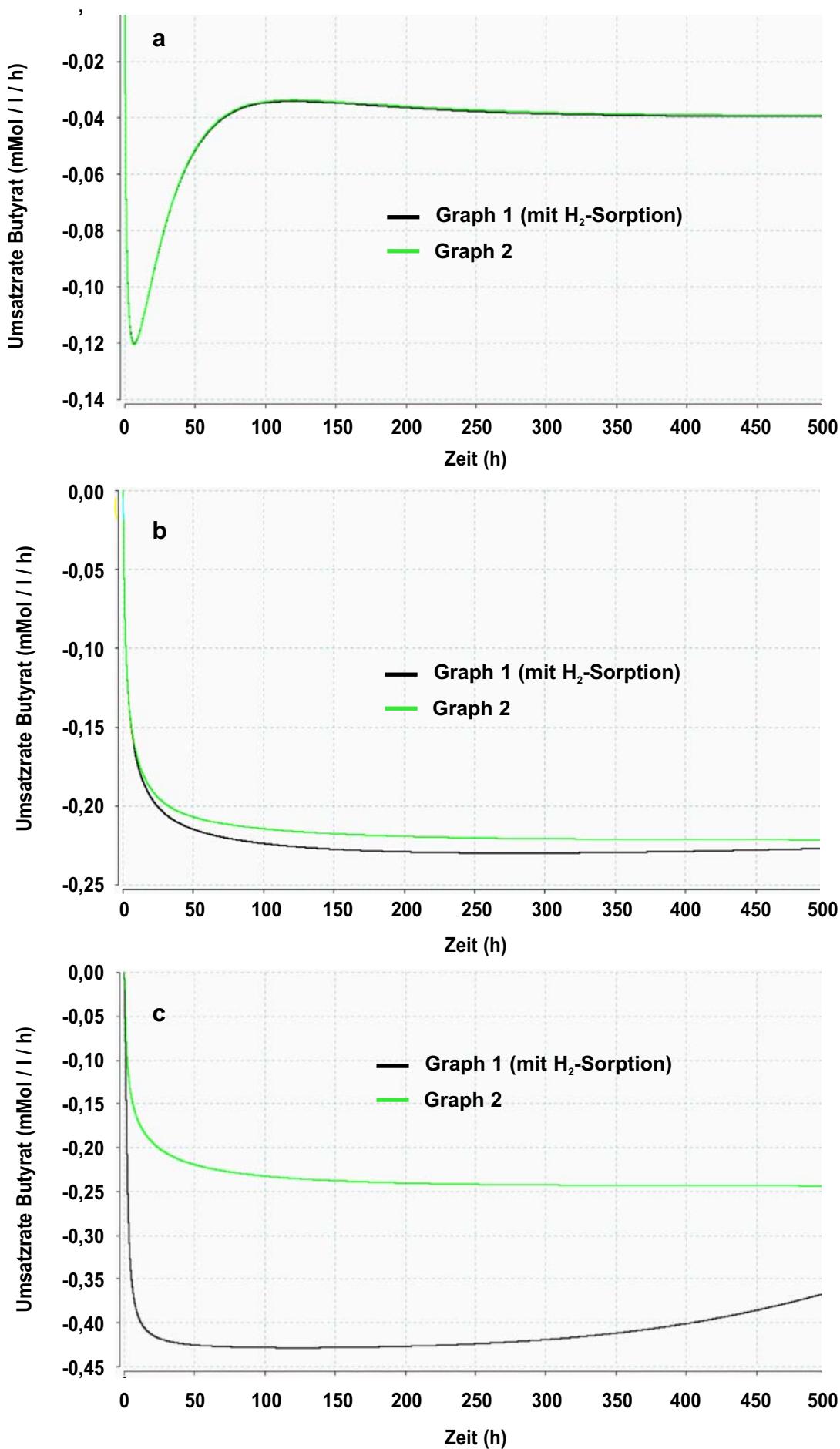


Abbildung 3.33:

Simulation H_2 -Konzentration a: Sphäre 1, b: Sphäre 2, c: Sphäre 3

**Abbildung 3.34:**

Umsatzrate Butyrat a: Sphäre 1, b: Sphäre 2, c: Sphäre 3

Die Wirksamkeit des beschriebenen Mechanismus hätte eine Reihe Konsequenzen zur Folge, die im Rahmen der Prozessentwicklung von erheblicher Bedeutung wären. Auf diese wird in der Diskussion, Abschnitt 4.5, näher eingegangen werden. Festzuhalten war an dieser Stelle, dass infolge der gradienteninduzierten Aufteilung der flüssigen Phase in einzelne Reaktionsräume eine optimierte Kopplung hydrogenogener und hydrogenotropher Reaktionen möglich erschien. In diesem Fall war eine Biofilmbildung zu erwarten, die als Funktion des Abstandes zur aktiven Oberfläche erfolgte. Die Besiedelung der Oberfläche bzw. die Ausbildung von biogenen Schichten würde entsprechend dem Stoffwechseltyp der einzelnen Zellen erfolgen und wäre letztlich als direkte Folge eines energetischen bzw. metabolischen Vorteils anzunehmen.

Es wurden weitere Versuche durchgeführt, die sich mit dem Einfluss von sulfidischen Präzipitaten auf metabolische Prozesse von Mikroorganismen in anaeroben Systemen beschäftigte. Die Versuchsreihen wurden hinsichtlich der untersuchten Systeme stark variiert. Die jeweiligen Details sind in den nachfolgenden Abschnitten aufgeführt. Im Kern hat bei der experimentellen Vorgehensweise eine Fokussierung auf die Fragestellungen stattgefunden, ob

- a) Indizien für eine Veränderung der Kopplung metabolischer Leistungen verschiedener ökophysiologisch relevanter Bakteria und Archaea (z.B. durch Elektronentransfer, Wasserstofftransfer) gefunden werden können,
- b) die räumliche Anordnung und Strukturierung von Agglomeraten aus sulfidischen Sedimenten und Biomasse einen Einfluss auf anaerobe Prozesse hat,
- c) sulfidische Sedimente strukturgebend hinsichtlich der räumlich Anordnung metabolisch aktiver Mikroorganismen und stabilisierend auf komplexe metabolische Leistungen wirken können.

3.5.4 Sorptionsversuche mit H₂

Es galt zunächst zu prüfen, ob ein abweichendes Verhalten unterschiedlicher Schwermetallsulfide gegenüber molekularem Wasserstoff durch direkte Messung nachzuweisen war. So wurden Versuche konzipiert und durchgeführt, in denen zunächst die unterschiedlichen Suspensionen an drei aufeinanderfolgenden Tagen für einen Zeitraum von jeweils vier Stunden kontinuierlich mit H₂ begast und anschließend für einen Zeitraum von 20 Stunden unter einer H₂-Atmosphäre aufbewahrt wurden. Nach diesem Zeitraum wurden alle Ansätze 60 Minuten lang gleichmäßig kontinuierlich mit N₂ begast um den Gasraum vollständig auszutauschen. Nach Beendigung der N₂-Begasung wurde nach 30 Minuten die Veränderung der H₂-Konzentration in der Gasphase untersucht.

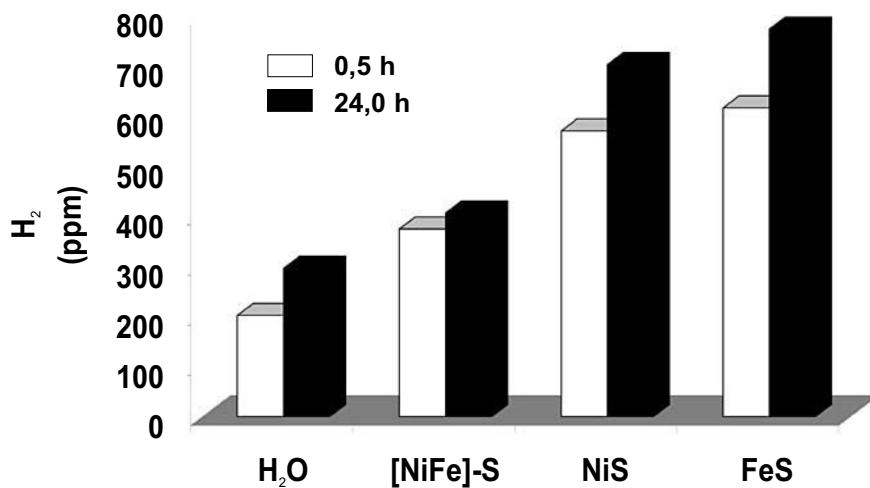


Abbildung 3.35:

Konzentration H_2 in der Gasphase nach Begasung mit H_2 und Ausgleich mit N_2 , (20 ml Schlammsuspension)

In Abbildung 3.35 ist die H_2 -Konzentration nach oben genannten 30 Minuten und zusätzlich nach 24 Stunden dargestellt. In Abhängigkeit der sulfidischen Verbindung konnten Abweichungen der Wasserstoffkonzentration in den einzelnen Versuchen nachgewiesen werden. Die geringste Wasserstoffkonzentration wurde in der Gasphase über reinem Wasser festgestellt. In allen Systemen, die metallsulfidische Verbindungen in der wässrigen Phase enthielten, wurden höhere H_2 -Konzentrationen festgestellt. Im Rahmen der Versuchsgenauigkeiten konnten die gemessenen Konzentrationen als Indiz für die Kapazität zur H_2 -Speicherung der einzelnen Systeme gewertet werden und deuteten darauf hin, dass metallsulfidische Verbindungen molekularen Wasserstoff reversibel binden können.

Jedoch konnte der Einfluss einiger möglicher Fehlerquellen nicht ausgeschlossen werden. Unter anderem ist anzuführen, dass trotz „Vergiftung“ der Ansätze mit $Hg(II)$ -Ionen nicht ausgeschlossen werden konnte, dass die zuvor festgestellte mikrobielle Kontamination einen Einfluss ausübte. Bei Wiederholung der dargestellten Prozedur, d.h. erneuter Begasung mit N_2 zum Austausch der Gasphase wurde jedoch in keinem Ansatz H_2 festgestellt. Dies deutete darauf hin, dass es nicht zu einer H_2 -Bildung, sei es rein chemisch oder mikrobiologisch, gekommen war. Schließt man aus, dass bei der Versuchsdurchführung technische Fehler (z.B. Durchflussschwankungen bei der Begasung) den Versuch beeinflusst haben, muss das Ergebnis als Indiz für die postulierte spezifische Speicherkapazität metallsulfidischer Verbindungen für H_2 gewertet werden.

3.5.5 Kultivierung mit *Synthetischem Eluat* (SE) in Segmentierten Reaktoren

Im Anschluss an die in Abschnitt 3.5.2 dargestellten Versuche zum Verbrauch organischer Säuren in Anwesenheit von NiS und FeS wurden Versuche in *Segmentierten Reaktoren* durchgeführt. Als Schlammsuspension wurde in diesem Experiment [NiFe]-S eingesetzt. Ebenfalls zu unterscheiden ist, dass einerseits der unter normalen anaeroben Bedingungen unter N₂ gelagerte Schlamm in die Untersuchung einbezogen wurde, jedoch andererseits Schlamm, der unter H₂ gelagert wurde. Im Unterschied zum oben genannten Versuch wurde die Kultur unmittelbar aus den kontinuierlichen Versuchen (R₂) entnommen und in den *Batch*-Versuchen eingesetzt. Als Substrat wurde in diesem Versuch *Synthetisches Eluat* (SE) eingesetzt, das in Anlehnung an das kohlenstoffreiche Eluat aus R₁ der kontinuierlichen Versuche mit Silage zusammengestellt wurde. Entgegen dem ersten Versuch musste das hier untersuchte System also als stabilisiertes System betrachtet werden.

In der Abbildung 3.36 a-h sind die Versuchsverläufe mit den jeweiligen Schlämmen im Vergleich zum Mittelwert aus zwei Blindversuchen ohne Dosierung zusätzlicher Schlämme dargestellt. Dabei sind bei den unterschiedlichen erfassten Variablen deutliche Abweichungen im zeitlichen Verlauf festzustellen. Nur geringfügige Abweichungen wurden für die Sulfatreduktion festgestellt, so dass anzunehmen war, dass zu jedem Zeitpunkt hohe Konzentrationen an geeignetem Elektronendonator vorhanden waren. Starke Unterschiede konnten jedoch in der zweiten Versuchshälfte für den Verbrauch der organischen Verbindungen festgestellt werden. Beim Vergleich der DOC-Abnahme bzw. bei Bildung von Carbonat in Blindprobe und schlammhaltigen Ansätzen wurde deutlich, dass der Umsatz organischer Verbindungen unter Bildung von Kohlendioxid in den Blindansätzen verlangsamt ablief, während nahezu gleiche Verläufe bei den schlammhaltigen Ansätzen festgestellt wurden. Die Anwesenheit der metallsulfidischen Verbindungen wirkte offensichtlich gleichmäßig beschleunigend auf den Abbau der organischen Verbindungen. Obwohl die Verläufe der Summenparameter DOC und IC in Anwesenheit der Schlämme sehr ähnlich waren, konnten jedoch auf der Ebene der VFA starke Unterschiede festgestellt werden. Die stärksten Abweichungen waren für Acetat zu erkennen, wo zunächst im mittleren Versuchsabschnitt besonders in den Blindproben eine starke Akkumulation festgestellt wurde. Propionat konzentrierte sich zu Versuchsende einerseits in den Blindproben, andererseits aber auch in den Ansätzen mit [NiFe]-S₊H₂ bis zu Konzentrationen von 400 - 600 mg/l auf. Beim Abbau von Butyrat, Valerat und Caproat zeigten sich jeweils sehr ähnliche Verläufe in den ersten 14 Tagen des Versuches. Abweichungen traten dann jedoch deutlich in der zweiten Versuchshälfte auf, wobei die geringsten Konzentrationen zunächst für die Blindprobe ermittelt wurden. Besonders Valerat und Caproat wurden in den Ansätzen bei Kultivierung in direktem Kontakt mit den sulfidischen Schlämmen entweder stark verlangsamt abgebaut oder verstärkt beim Abbau von Glucose in Verbindung zur Regenerierung von NADH nachgebildet [Ruzicka 1996a/b].

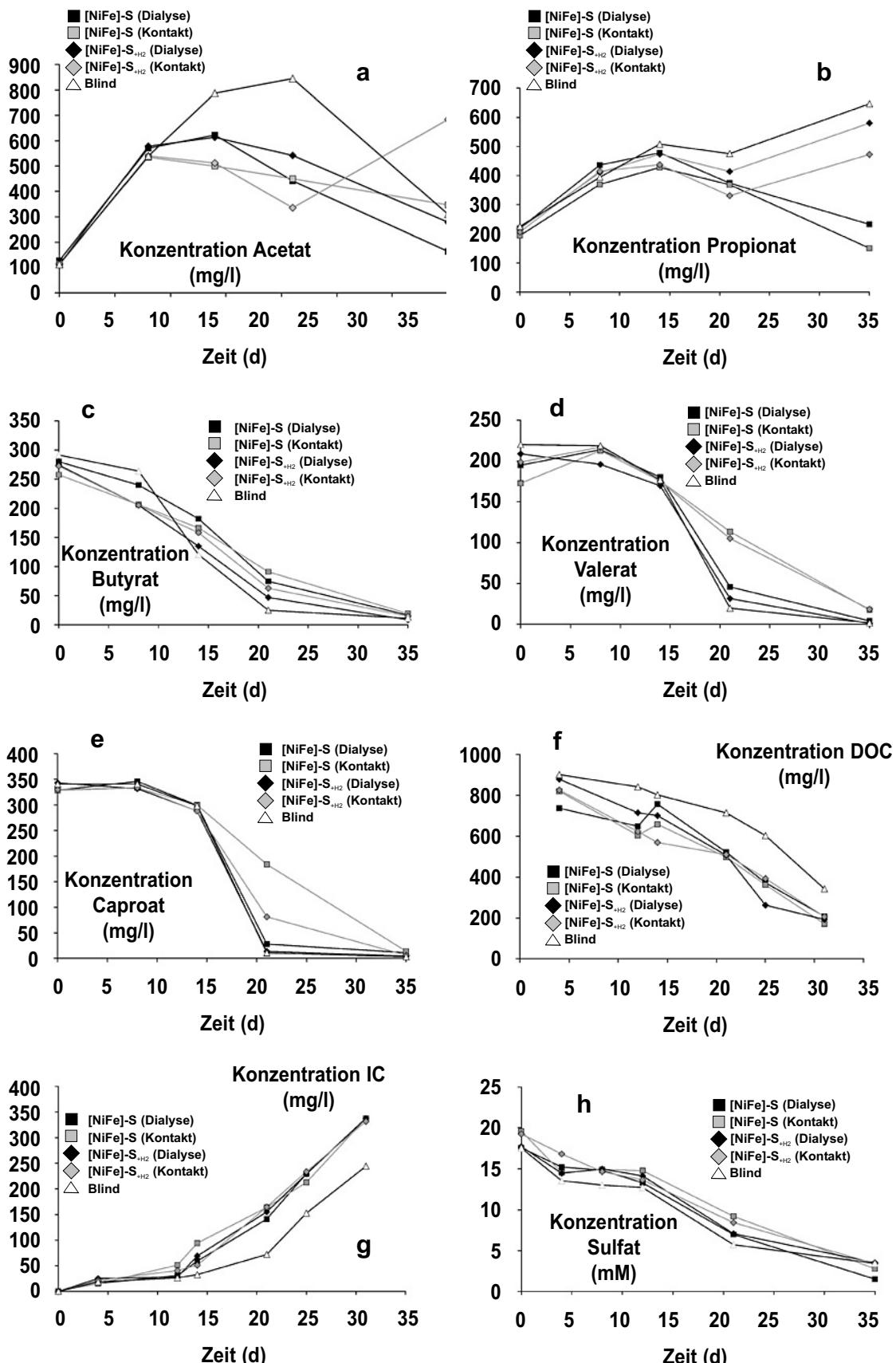


Abbildung 3.36:

Konzentration VFA, Kohlenstoff und Sulfat, Batch-Kultivierung in Segmentierten Reaktoren;

a: Acetat, b: Propionat, c: Butyrat, d: Valerat, e: Caproat, f: DOC, g: IC, h: Sulfat

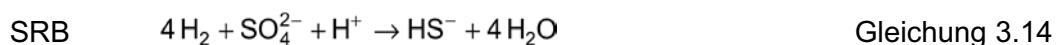
(V_L = 250 ml; SE: 2,8 mM Glucose, 2,5 mM Acetat, 2,5 mM Propionat, 2,5 mM Butyrat, 2,5 mM Valerat, 2,5 mM Caproat; 20 ml Schlammsuspension im jeweiligen Segment)

Im Falle der Blindproben schien die Neubildung der VFA und somit der Abbau des DOC verzögert. Die Ergebnisse dieses Versuchs waren trotz der Ähnlichkeit im Versuchsaufbau nicht so deutlich ausgeprägt wie im zuerst dargestellten Versuch (Abschnitt 3.5.2). Der Einfluss der Prozessbeschleunigung und der Verschiebung der Verhältnisse auf der Ebene der Intermediat-Konzentrationen (VFA) konnte jedoch wiederum gedeutet werden als mögliche Veränderung der Kopplung relevanter mikrobieller Prozesse in einer komplexen, technisch stabilisierten Mischkultur durch eine katalytisch wirksame Oberfläche infolge einer räumlichen Veränderung der H₂-Konzentrationen. Die quantitativen Abweichungen zum Versuch in Abschnitt 3.5.2 konnten u.a. zurückzuführen sein auf die Stabilität der Mischkultur oder auch auf stöchiometrische Unterschiede bezogen auf die Zusammensetzung des sulfidischen Sedimentes.

3.5.6 *Fed-Batch*-Kultivierung mit H₂ / Lactat / Methanol

Die Konzeption dieses Versuchs zielte in erster Linie auf die Untersuchung eines möglichen strukturgebenden Einflusses bei Kultivierung einer anaeroben Mischkultur in Anwesenheit sulfidischer Sedimente. Zur Untersuchung dieses Aspektes wurde eine Mischkultur (MK I) ausgewählt, über deren Eigenschaften einige wichtige Details bekannt waren. Die Vorkenntnisse über die eingesetzte Mischkultur erstreckten sich zum einen auf die Anwesenheit bestimmter Mikroorganismen und zum anderen auf die Art der Umsetzung der relevanten Elektronendonoren H₂, Lactat und Methanol. Dabei stand im Kern der Überlegung die Konstruktion eines Systems, das auf den Transfer von Energie, d.h. Elektronendonoren angewiesen war, ähnlich wie es für das technische System beim syntrophen Umsatz von VFA vermutet wurde.

H₂ galt dabei als Elektronendonator sowohl für SRB als auch für MPB.

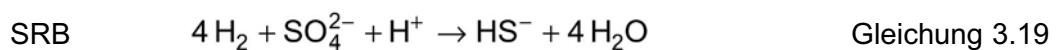
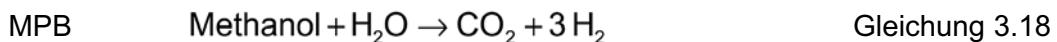


Lactat ist geeignetes Substrat für SRB und wurde in der Regel unvollständig bis zur Stufe des Acetats abgebaut. Während Acetat i.d.R. akkumulierte, konnte es in geringeren Raten durch acetoklastische MPB abgebaut werden.



Es war aus Versuchen an anderer Stelle bekannt, dass Methanol nicht direkt an die Reduktion von Sulfat gekoppelt werden konnte, zur Sulfatreduktion bedurfte es eines Wasserstofftransfers [Walther 2001]. Methanol musste zunächst durch MPB

(*Methanosarcina* spp.) unter teilweiser Bildung von Wasserstoff oxidiert werden [Valentine et al. 2000, Walther 2001]. Der Einsatz von Methanol als Substrat für MK I hatte an dieser Stelle aus zwei Gründen besondere Bedeutung: Zum einen beruhte das mikrobiologische System in diesem Fall auf einem *Interspecies Hydrogen Transfer*, zum anderen gehörten die zur Oxidation von Methanol befähigten Organismen zur Art *Methanosarcina* und bildeten sehr deutliche, mikroskopisch erfassbare Strukturen aus. Zur Untersuchung einer möglichen strukturgebenden Funktion der metallsulfidischen Verbindungen unter Beachtung einer Veränderung des Wasserstofftransfers erschien das System aus diesen Gründen ideal.



Unter der Annahme, dass metallsulfidische Verbindungen zum einen eine substanzspezifische Affinität gegenüber H_2 besitzen und zum anderen H_2 -abhängige mikrobielle Prozesse koppeln können, war zu prüfen, ob dieser chemische Einfluss gleichzeitig die oben postulierte strukturgebende Funktion ausüben konnte und somit eine Auswirkung auf die Besiedelung oder auch Biofilmbildung auf den sulfidischen Sedimenten hatte. Die *Fed-Batch*-Kultivierung erfolgte über einen Zeitraum von 14 Tagen, wobei darauf gezielt wurde, die Strukturierung *sulfidische Schlämme* - *Biomasse* visuell mittels *Confocal Laser Scanning Mikroskopie* sichtbar zu machen. In Abbildung 3.37a-f sind unterschiedliche Aufnahmen unter Verwendung eines Nukleinsäure-Markers (Syto 9) bzw. eines Proteinmarkers (CYPROOrange) dargestellt.

In Abbildung 3.37a und 3.37b ist zu erkennen, dass sich nach Abschluss der Kultivierung mit Methanol abhängig von den metallsulfidischen Sedimenten FeS bzw. NiS unterschiedliche Strukturen ausgebildet hatten. Zentral zu erkennen ist jeweils ein typisches Agglomerat von Zellen von *Methanosarcina*, das eingebettet ist in eine anorganische Matrix. Während in Anwesenheit von FeS kaum Signale aufgenommen wurden, die auf eine Anwesenheit weiterer aktiver Mikroorganismen innerhalb der anorganischen Matrix schließen ließen, ist in Anwesenheit von NiS (Abbildung 3.37b) eine starke Besiedelung des anorganischen Sedimentes zu erkennen. Bei Kultivierung mit H_2 (Abbildung 3.37c und 3.37d) wurden in beiden Ansätzen stark besiedelte Sedimente festgestellt. In Anwesenheit von FeS waren diese Strukturen jedoch weniger kompakt als in Anwesenheit von NiS. Während in letzteren Ansätzen nur sehr wenige deutliche Signale von Zellen in Suspension erfasst wurden, war in Anwesenheit von FeS eine große Anzahl von Zellen zu erkennen, die sich offensichtlich nicht in direktem Kontakt mit anorganischen Oberflächen befanden. In Abbildung 3.37e und 3.37f sind bei Kultivierung mit Lactat sehr heterogene Strukturen für FeS und NiS zu erkennen. Während sich auch hier nach wie vor eine hoher Anteil der erfassten Zellen in Assoziation mit den jeweiligen anorganischen Sedimenten befand, sind gleichzeitig in beiden Ansätzen viele Zellen in Suspension bzw. nicht in direktem Kontakt mit den anorganischen Sedimenten erfasst worden.

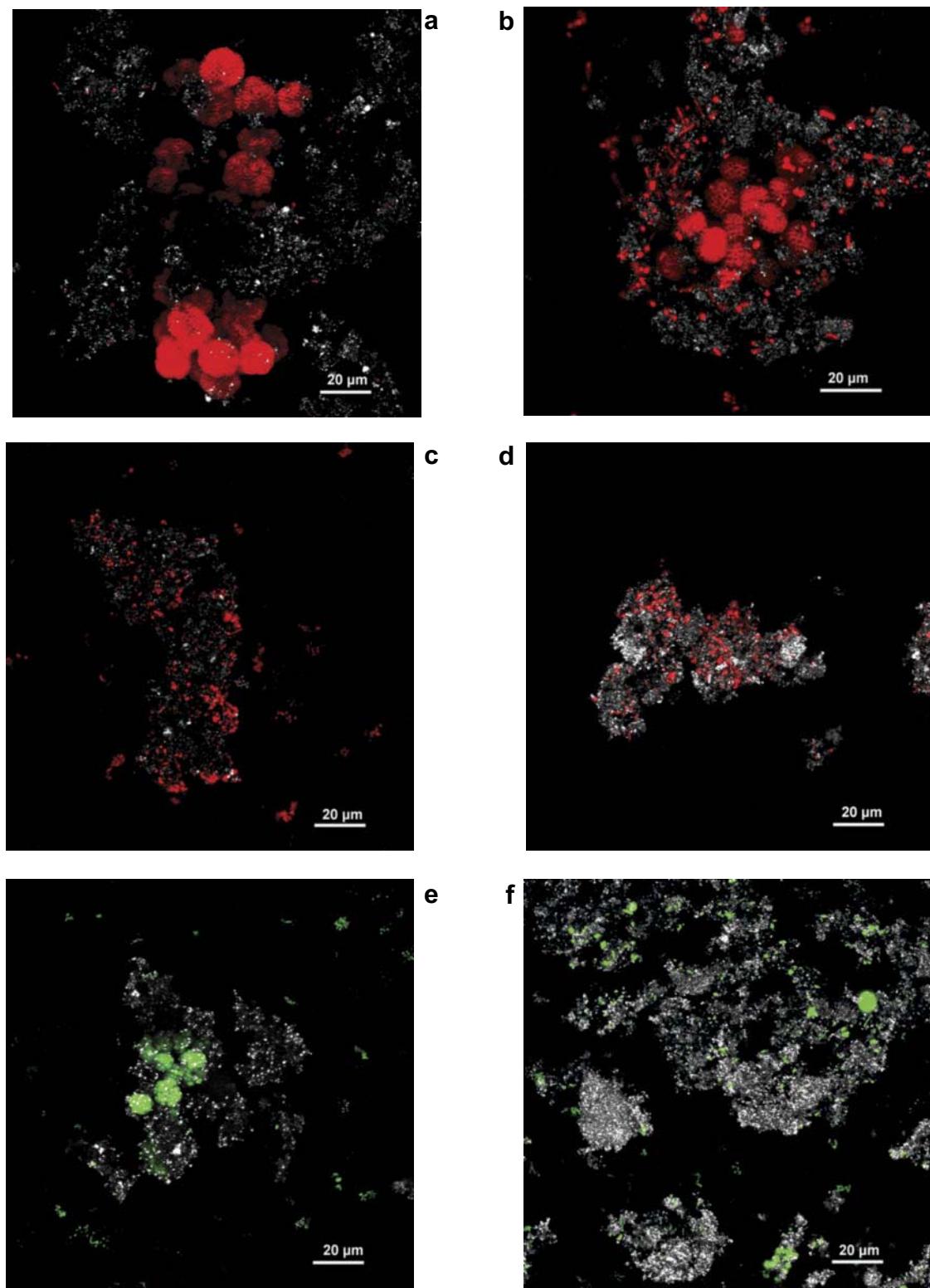


Abbildung 3.37:

Strukturierung *Biomasse-Sediment*; MIP (Maximum Intensity Projection), 2-Kanal CLSM Bildstapel (weiß = Reflexion, grün = Syto 9 (Nukleinsäure-Marker), rot = SYPROOrange (Proteinmarker)); *Fed-batch*-Kultivierung; a) Methanol FeS, b) Methanol NiS, c) H₂ FeS, d) H₂ NiS, e) Lactat FeS, f) Lactat NiS ($V_{L,Start} = 100 \text{ ml}$, 25 ml Schlammsuspension)

Letzteres Ergebnis zur Kultivierung mit Lactat war im Zusammenhang mit den vermuteten Stoffumsätzen erwartungsgemäß, da der Umsatz dieses Substrates innerhalb der Mischkultur nicht von einem *Interspecies Hydrogen Transfer* abhing. Anders war dies in den Ansätzen mit Methanol und H₂. Hier war molekularer Wasserstoff als relevanter Elektronendonator anzunehmen. Die starke Assoziation der Zellen mit den anorganischen Oberflächen prägte hier den optischen Eindruck deutlich. Dabei sind erhebliche Unterschiede zwischen NiS und FeS festzustellen. Assoziierte man das Fehlen suspendierter Zellen mit der Vermutung eines Vorteils für die Zellen in Kontakt mit den NiS-Sedimenten, schien dieser Einfluss für FeS vorhanden, jedoch geringfügiger ausgeprägt. Besonders deutlich wurde dieser Eindruck bei Kultivierung mit Methanol (Abbildung 3.37a und 3.37b). Unter der Annahme, dass beim Umsatz von Methanol H₂ gebildet, aus den Zellen freigesetzt und für andere Mikroorganismen verfügbar wurde, erschien aufgrund der Positionierung und Strukturierung der Zellen in Anwesenheit von NiS dieser Elektronentransfer wesentlich stärker ausgeprägt als für FeS. Im Zusammenhang mit den Abbildungen bei Kultivierung mit H₂ (Abbildung 3.37c und 3.37d) und dem erhöhten, jedoch begrenzten Anteil suspendierter Zellen in Anwesenheit von FeS ließ sich wiederum eine Aktivität der anorganischen Oberflächen gegenüber H₂ vermuten. NiS hätte entsprechend dem optischen Eindruck eine stärkere Affinität zur reversiblen H₂-Adsorption. Unabhängig von den möglichen zugrundeliegenden chemischen Reaktionen erschien eine strukturgebende Funktion der metallsulfidischen Sedimente eindeutig.

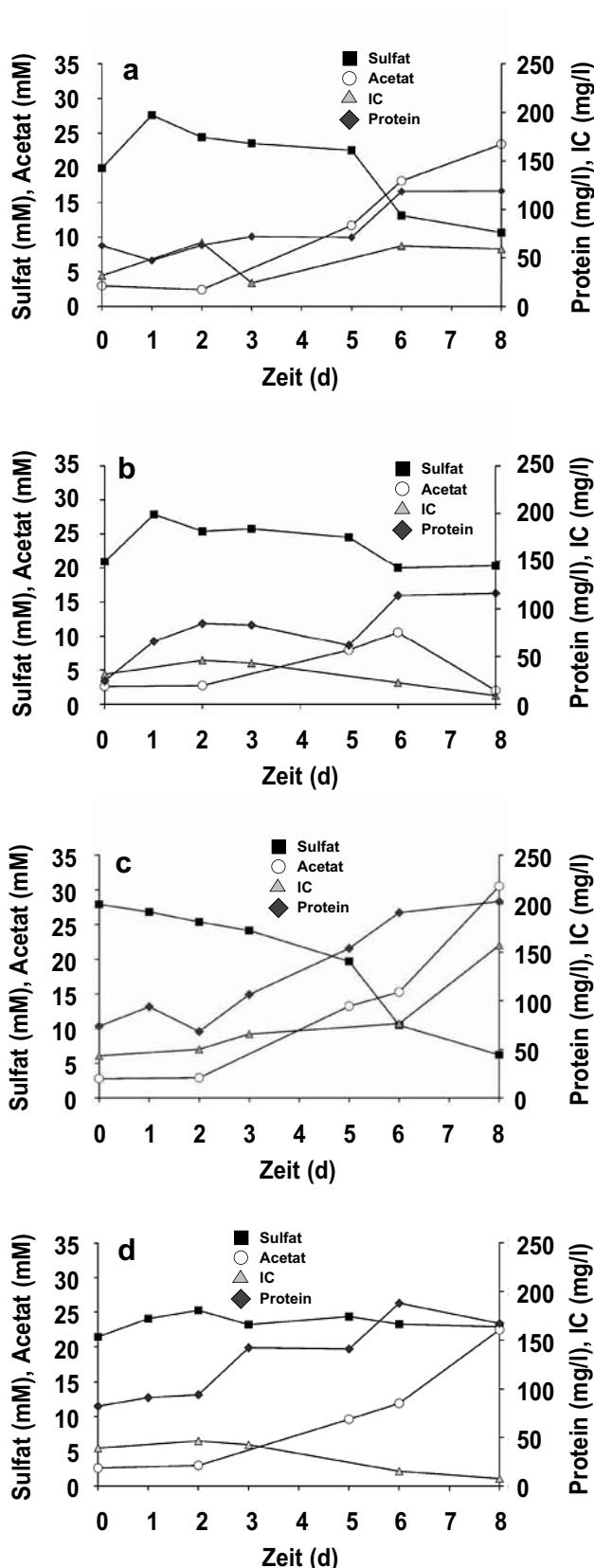
3.5.7 Kultivierung von *Syntrophomonas wolfei* spp. *wolfei*

Syntrophomonas wolfei spp. *wolfei* ist ein obligat anaerobes Bakterium, das in Cokultur mit einem wasserstoffzehrenden Bakterium (z.B. *Desulfovibrio* sp.) zur Energiegewinnung aus syntropher Fettsäureoxidation befähigt ist [Lorowitz et al. 1989, McInerney et al. 1981a/b]. Trifft die aufgestellte These zu, die besagt, dass in Anwesenheit von sulfidischen Oberflächen der H₂-abhängige Metabolismus anaerober Bakterien verändert wird, da sich die Verfügbarkeit, d.h. die lokale H₂-Konzentration ändert, so sollte sich dieses Phänomen auf den Verlauf der Kultivierung von *Syntrophomonas wolfei* auswirken. Die Vorkultivierung fand entsprechend der Beschreibung in Abschnitt 2 statt, mit dem Ziel, lediglich eine kurze Adaptation an das Medium und eine Vergrößerung des Gesamtvolumens zu erreichen. Die leicht angewachsene Kultur wurde dann in unterschiedliche Ansätze aufgeteilt und entsprechend in Anwesenheit von metallsulfidischen Verbindungen kultiviert. Gezielt untersucht werden sollte der Eintritt in und Verlauf der exponentiellen Wachstumsphase dieser obligat syntrophen Cokultur in Anwesenheit eines anfänglich hohen Wasserstoffpartialdruckes und somit ungünstiger Startbedingungen für fermentative Prozesse.

In den Abbildungen 3.38 a-d sind die Konzentrationsverläufe für Sulfat, Acetat, IC und Protein von vier unterschiedlichen Ansätzen mit [NiFe]-S (unter N₂ gelagert) und

[NiFe]-S₊H₂ (unter H₂ gelagert) dargestellt. Die Kultivierung erfolgte wiederum einerseits bei direktem Kontakt von sulfidischem Sediment und Biomasse und andererseits bei Trennung von sulfidischem Schlamm und Biomasse mittels eines Dialyseeschlauchs. Es war anhand der Proteinkonzentration zu erkennen, dass innerhalb der ersten zwei Tage der Kultivierung alle Versuchansätze angewachsen waren. Dies konnte ebenfalls gut mittels Phasenkontrastmikroskopie verfolgt werden. Innerhalb des dargestellten Zeitraums von acht Tagen stieg die Proteinkonzentration auf Werte größer 170 mg/l in den Versuchen zur Kultivierung in Kontakt zu den Sedimenten bzw. 120 mg/l bei getrennter Kultivierung mit Dialyseeschlauch. Dabei waren die Endkonzentrationen in den jeweiligen Ansätzen mit Dialyseeschlauch bzw. ohne Dialyseeschlauch vergleichbar, es konnte kein Unterschied hinsichtlich Biomassewachstum zwischen [NiFe]-S und [NiFe]-S₊H₂ festgestellt werden. Auffällig hingegen waren starke Unterschiede für die Sulfatkonzentration. So betrug der gemessene Wert nach zwei Tagen in allen Ansätzen ca. 25 mM. In den folgenden sechs Versuchstagen wurden in den Versuchen mit [NiFe]-S 77% (Kontakt) und 61% (Dialyse) Sulfat eliminiert. Die Sulfatreduktionseffizienz in den Ansätzen mit [NiFe]-S₊H₂ in diesem Zeitraum betrug jedoch lediglich 5% (Kontakt) und 27% (Dialyse). Weitere Unterschiede wurden festgestellt für die Bildung von Carbonat bzw. Kohlendioxid. Eine Zunahme der IC-Konzentration konnte nur in Anwesenheit von [NiFe]-S erfasst werden. Die Zunahme zum anfänglichen Wert betrug ca. 114 mg/l (Kontakt) und 27 mg/l (Dialyse). In Anwesenheit von [NiFe]-S₊H₂ wurde gegenteilig eine stetige Abnahme des anorganischen Kohlenstoffs festgestellt. In allen Versuchen fand trotz anfänglichem hohem Wasserstoffpartialdruck eine starke Akkumulation von Acetat bis auf Konzentrationen von über 30 mM bei Kultivierung mit [NiFe]-S in direktem Kontakt statt. Lediglich bei Kultivierung mit [NiFe]-S₊H₂ im Dialyseeschlauch zeigte sich ein deutlich abweichender Verlauf. Hier wurde Acetat zunächst nur in geringeren Konzentrationen akkumuliert und letztlich verbraucht ohne dass gleichzeitig eine IC-Zunahme festzustellen gewesen wäre. Die Ursache für das starke Abweichen des letzten Messwertes konnte nicht geklärt werden.

Die Zugabe der sulfidischen Schlämme veränderte die Prozesse in diesem Versuchsansatz in unterschiedlicher Hinsicht also maßgeblich. Nach Zugabe der Schlämme setzte unmittelbar deutliches Wachstum in allen Ansätzen ein, dass in Blindversuchen ohne Schlämme nicht oder nur verzögert festgestellt wurde (Daten nicht dargestellt). Das Einsetzen des Wachstumsprozesses erschien hier induziert bzw. beschleunigt durch die Anwesenheit der sulfidischen Sedimente. Das Phänomen, dass in den jeweiligen Ansätzen mit bzw. ohne Dialyseeschlauch vergleichbar steigende Proteinkonzentrationen erfasst, jedoch erhebliche Unterschiede bei den metabolischen Reaktionen festgestellt wurden, deutete darauf hin, dass die quantitative Konserverung von Energie bezogen auf das Gesamtsystem ähnlich verlief, jedoch das Wachstum unterschiedlichen Organismen zuzuordnen war. Da der einzige Unterschied zwischen den zugegebenen Schlämmen die Lagerung unter H₂ bzw. N₂ darstellte, lag



die Vermutung nahe, dass durch die Zugabe der Schlämme H_2 -abhängige, gekoppelte Prozesse beeinflusst, d.h. das metabolische Gleichgewicht (syntrophe Reaktion) zwischen den voneinander abhängigen Organismen verschoben wurde. Eine solcher Einfluss ließ wieder auf eine Veränderung der Verfügbarkeit von H_2 bedingt durch die metall-sulfidischen Sedimente schließen. Einschränkungen bei der endgültigen Beurteilung der Ergebnisse mussten wiederum mit Hinblick auf fehlende Kenntnisse über die Kontamination der zugegebenen Sedimente gemacht werden. Dieser zusätzliche mögliche Einfluss wurde jedoch zumindest relativiert durch die starke Zunahme der Biomasse außerhalb der Dialyseschläuche, die nicht durch die Anwesenheit einer Kontamination erklärt werden konnte. Die qualitative Aussage über den Einfluss der sulfidischen Sedimente blieb also hiervon zunächst unberührt.

Abbildung 3.38:

Kultivierung von *Syntrophomonas wolfei* spp. *wolfei* in Cokultur mit *Desulfovibrio* sp.; a: $[NiFe]-S_{Dialyse}$, b: $[NiFe]-S_{+H_2, Dialyse}$, c: $[NiFe]-S_{Kontakt}$, d: $[NiFe]-S_{+H_2, Kontakt}$
($V_L = 50$ ml, Schlammsuspension 10 ml, 30 °C)

3.5.8 Kontinuierlicher Prozess mit *Synthetischem Eluat* (SE)

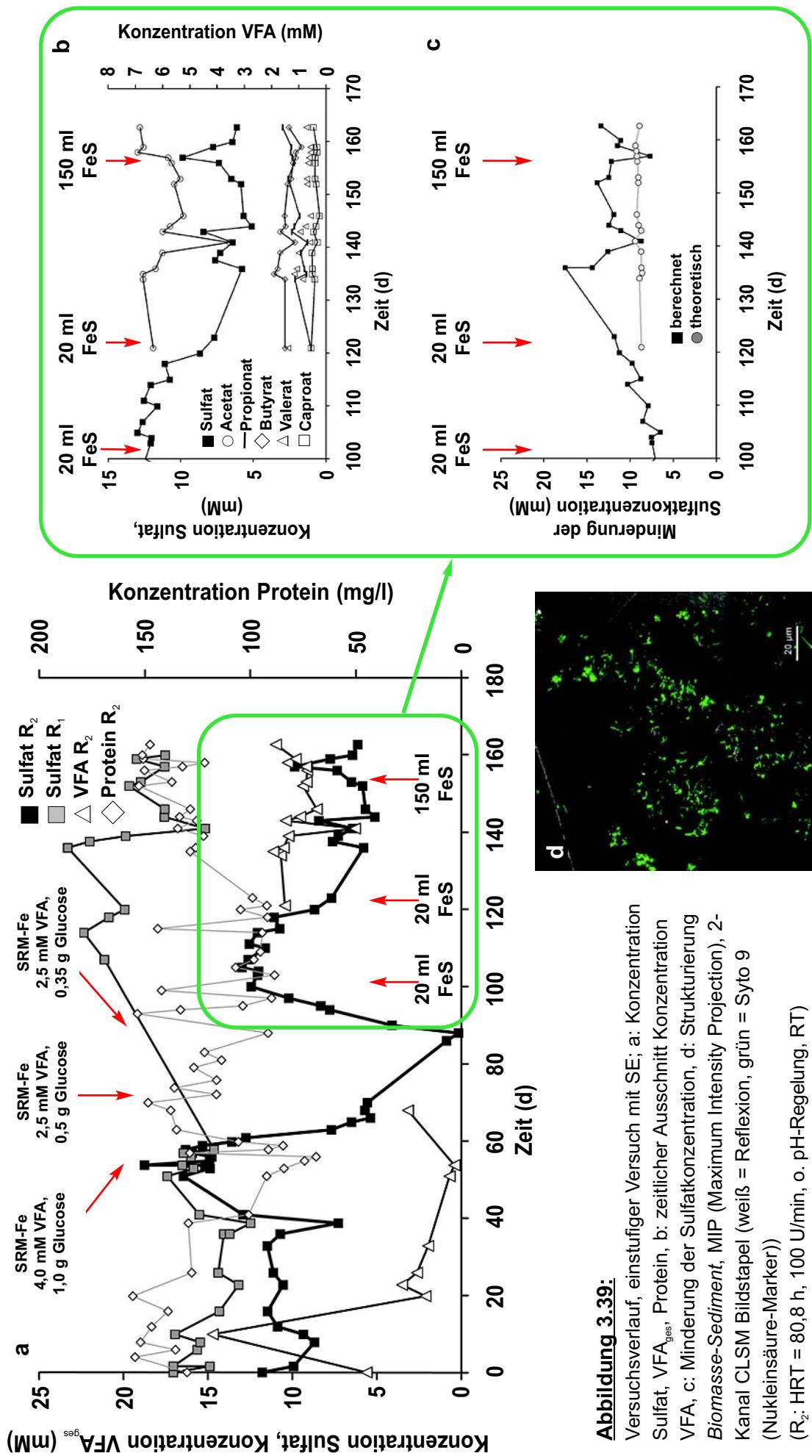
Der Einfluss einer separaten Dosierung einer FeS-Suspension wurde im Rahmen eines kontinuierlichen Versuchs untersucht. Hierzu wurde zunächst die herkömmliche zweistufige Betriebsweise gewählt und nach einem Zeitraum von 55 Tagen auf einstufigen Betrieb umgeschaltet. In dieser Phase wurde das Eluat aus der Silage ersetzt durch ein *Synthethisches Eluat*. An Tag 110, Tag 122 und Tag 155 erfolgten dann die Injektionen der Schlammsuspension ($\text{FeS}_{\text{+H}_2}$) in den entsprechenden Volumina von jeweils 20 ml in den beiden ersten Fällen und 150 ml bei der dritten Dosierung.

In Abbildung 3.39a ist zunächst der Gesamtverlauf des Versuches hinsichtlich Sulfatkonzentration, VFA-Konzentration und Proteinkonzentration dargestellt. Zusätzlich sind für einzelne einstufige Betriebsphasen die Substratkonzentrationen im Zulauf angegeben. Ebenso hervorgehoben sind die Zeitpunkte zu denen dann die Injektion des FeS-Schlammes erfolgte.

Gesondert dargestellt sind in Abbildung 3.39b die Konzentrationsverläufe der einzelnen erfassten VFA im letzten Abschnitt des Versuches, zusätzlich in Abbildung 3.39c ein Vergleich der berechneten Sulfatreduktion zum theoretischen Wert, der sich wiederum ergibt aus dem syntrophen Umsatz aller zugegebenen Verbindungen unter Bildung von Wasserstoff als Elektronendonator für Sulfatreduktion und Acetat.

Ähnlich den kontinuierlichen zweistufigen Versuchen mit Silage konnte die theoretische zeitliche Ausbeute die tatsächlich gemessenen Werte nicht vollständig erfassen. Während jedoch im Versuch mit Silage nicht ausgeschlossen werden konnte, dass zusätzlich zum erfassten DOC partikuläre bzw. kolloidale Verbindungen, die potenziell in R_2 hydrolysiert werden konnten, diese Abweichung hervorgerufen hatten, konnte dies hier ausgeschlossen werden. Die Umsatzraten konnten nur durch eine zusätzliche Zehrung eines bestimmten Anteils an Acetat gekoppelt an mikrobielle Sulfatreduktion erklärt werden.

Ein eindeutiger Einfluss der Dosierung des Schlammes konnte zu keinem Zeitpunkt festgestellt werden. Wohl traten im relevanten Zeitraum Schwankungen in Bezug auf die Sulfatreduktion auf, jedoch konnte keine eindeutige Korrelation festgestellt werden. Auffällig im Vergleich zu den schwankenden Sulfatkonzentrationen waren hingegen die stabilen Verläufe der VFA-Konzentrationen. Ebenfalls starke Schwankungen wurden bei Messung der Proteinkonzentrationen erfasst. Insgesamt konnte eine tendenzielle Verbesserung der Sulfatreduktion im Versuchsverlauf mit *Synthetischem Eluat* festgestellt werden. Dies konnte zurückzuführen sein auf eine fortschreitende Adaptation der Mikroorganismen an die Bedingungen und eine Verbesserung der Strukturierung der Matrix aus sulfidischen Schlämmen und Biomasse. Ein Indiz für diese These konnte in den kontinuierlich ansteigenden Proteinkonzentrationen gesehen werden, die möglicherweise auf eine Immobilisierungsfunktion der zugegebenen Schlämme zurückzuführen war. Die starke Tendenz der Anlagerung von Mikroorganismen an separat zugegebene sulfidische Präzipitate kann Abbildung 3.39d entnommen werden. Die Aufnahme entstand kurze Zeit nach der ersten Zugabe von 20 ml $\text{FeS}_{\text{+H}_2}$.



3.5.9 Kontinuierlicher Prozess in Festbettreaktoren

Bei einer technischen Umsetzung des Verfahrens zur Reinigung von Bergbau-abwässern muss anstelle eines gerührten Reaktors (CSTR) für R₂ ein Festbettreaktor eingesetzt werden. Diese Reaktionsstufe muss ohne kontinuierlichen Abzug der sulfidischen Schlämme betrieben werden, was im Prozessverlauf zur Folge hat, dass das ursprüngliche Festbett mit einer metallsulfidischen Schicht überzogen wird, die möglicherweise die Prozesse langfristig beeinflusst.

Zur Untersuchung dieses technischen Aspektes wurde ein zweistufiger Versuch konzipiert und durchgeführt in dem als R₂ jeweils ein Festbettreaktor (Bimsstein, Kies) mit FeS-, mit [NiFe]-S- bzw. mit [CuFe]-S-Beschichtung etabliert wurde. Da R₁ nicht kontinuierlich begast wurde, kam es hinsichtlich der Elution von organischen Verbindungen aus der Silage zu einem ähnlichen Versuchsverlauf wie in den anfänglichen Fermenterversuchen (starke Sulfatreduktion in R₁, geringe DOC-Konzentrationen in R₂, etc., siehe Abschnitt 3.4). Ein stabiler Sulfatreduktionsprozess konnte analog zu jenen Versuchen nicht eingeleitet werden. In Abbildung 3.40a sind die Sulfatkonzentrationen in R₁ und den jeweiligen R₂ dargestellt.

Der Versuch wurde unter mehrmaligem Austausch von R₁ weitergeführt und abschließend mittels *Confocal Laser Scanning Microscopy* eine Untersuchung der mikrobiellen Strukturen auf der Oberfläche des Trägermaterials durchgeführt. Die Abbildungen 3.40 b-d stellen entsprechend Aufnahmen für FeS, [NiFe]-S und [CuFe]-S dar.

Die Oberflächenbesiedelung der unterschiedlichen Festbetten zeigte nach Abbruch des Versuches optisch unterschiedliche Strukturen. Während in Anwesenheit von FeS (Abbildung 3.40b) die immobilisierte Biomasse dominiert wurde durch einzelne Zellen, bildeten sich in Anwesenheit von [FeNi]-S und [FeCu]-S (entsprechend Abbildungen 3.40c und 3.40d) sehr kompakte dichte Biofilme aus, die enger assoziiert mit den anorganischen Oberflächen erschienen als im Falle des reinen FeS. Eine Erklärung für diese Strukturierung der Biofilme konnte wiederum in einem Einfluss der metallsulfidischen Oberflächen auf den mikrobiellen Metabolismus bestehen, was jedoch im Rahmen dieses Versuches nicht durch weitere Daten belegt werden konnte.

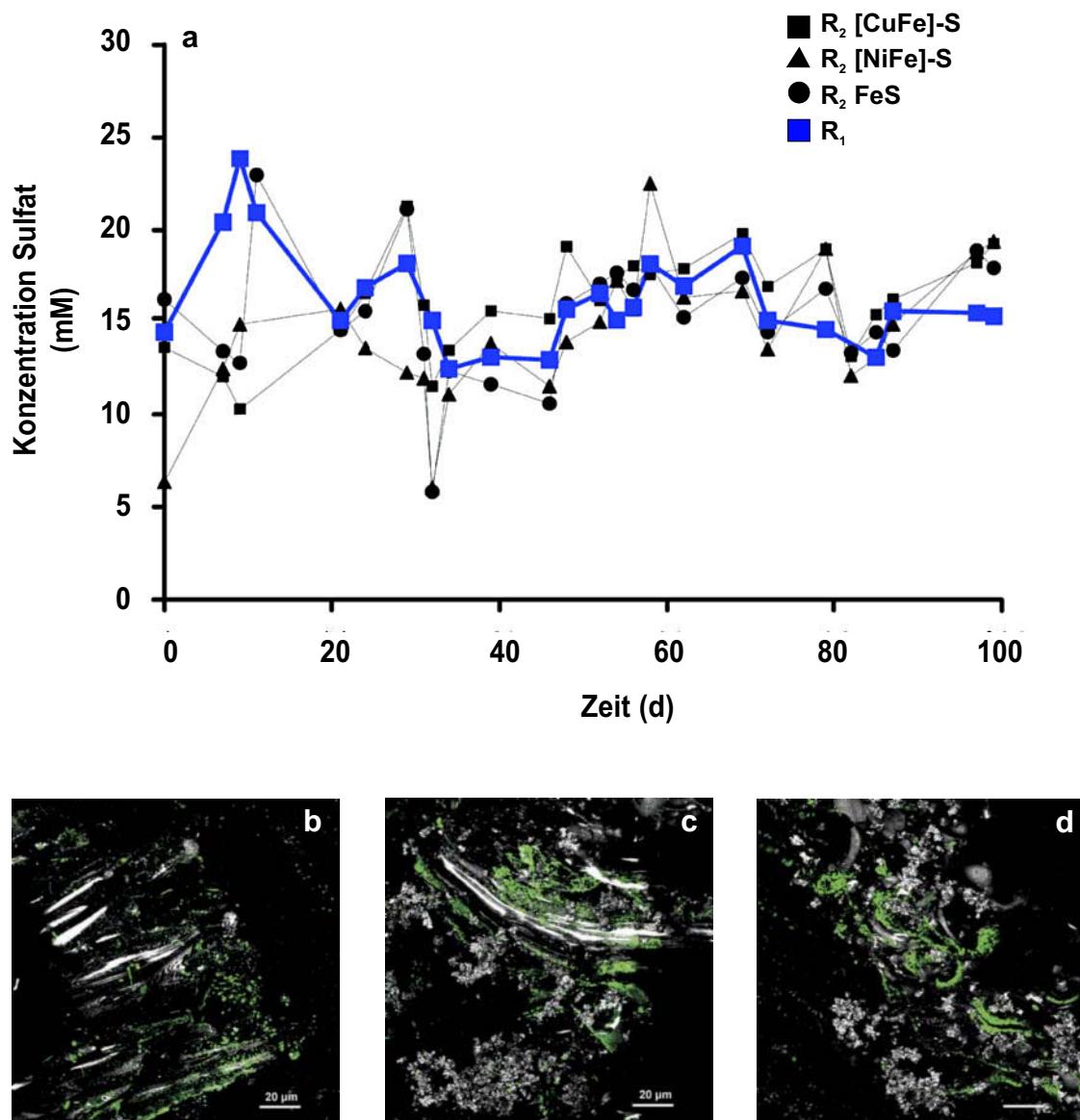


Abbildung 3.40:

Versuchsverlauf im zweistufigen Reaktorsystem (Festbettversuch) in Anwesenheit von Schwermetallsulfiden; a: Konzentration Sulfat, b-d: Strukturierung *Biomasse - Festbett - Schlamm*; MIP (Maximum Intensity Projection), 2 Kanal CLSM, Bildstapel (weiß = Reflexion, grün = Syto 9 (Nukleinsäure-Marker), b: FeS, c: [NiFe]-S, d: [CuFe]-S
 R_1 : HRT = 66,8 h - 56,4 h, Festbett: Bimsstein, Kies, o. pH-Regelung, RT;
 R_2 : HRT = 44,8 h - 38,4 h, o. pH-Regelung, RT)

4 Diskussion

4.1 Mikrobiologisch vermittelte Stoffumsätze als Basis des technischen Prozesses

Im Rahmen dieser Arbeit sollte eine Technologie entwickelt werden, die einerseits eine ergänzende technische Möglichkeit zur Schwermetalleliminierung aus sauren Bergbauwässern (AMD) zu herkömmlichen Verfahrenstechniken (i.d.R. Fällung) darstellte. Andererseits sollte eine effektive Behandelbarkeit neutraler Bergbauwässer (NMD) ermöglicht werden.

Aus den technischen und ökonomischen Gründen, die in Abschnitt 1 und Abschnitt 3.1 dargestellt wurden, wurde mikrobielle Sulfidogenese in Verbindung zur sulfidischen Fällung der gelösten Schwermetalle als zentrale Komponente der Technologie gewählt.

Im Kern der technischen Entwicklung stand dabei die Absicht, Vorteile sowohl sogenannter *Aktiver Verfahren* und als auch *Passiver Verfahren* zu kombinieren, mit dem Ziel, ein verlässliches langzeitstables und gleichzeitig kostengünstiges Verfahren zu entwickeln.

Trotzdem die Arbeit in ihrer Zielrichtung verfahrenstechnisch und das eigentliche Ziel die Schwermetalleliminierung durch Sulfidfällung war, betrafen entscheidende Entwicklungen das grundlegende mikrobiologische System auf der Ebene der Freisetzung und des Umsatzes löslicher organischer Substrate aus einem *Festen Substanzgemisch* (FSG), das als Quelle für Substrate eingesetzt wurde. Dieser Reaktionsstufe (R₁) war das Potenzial zur Stabilisierung bzw. Selbststabilisierung des Gesamtprozesses zuzuordnen, sie stellte nach dem abschließenden Stand der Untersuchungen die eigentliche Grundlage der entwickelten zweistufigen Technologie dar. Es konnte gezeigt werden, dass gezielte, technisch einfache Eingriffe in das komplexe mikrobiologische System die gewünschte Prozessstabilisierung unterstützen bzw. sogar herbeiführen und zu einer Reduzierung des notwendigen technischen Aufwandes führen konnten.

Der in dieser Arbeit entwickelte technische Ansatz zur Behandlung von Bergbauwässern ist neu. Technisch am ehesten vergleichbare Ansätze sind weniger mit der Zielsetzung der Sulfatreduktion und Schwermetalleliminierung, als vielmehr zur anaeroben Behandlung von organisch belasteten Abwässern bzw. zur Energiegewinnung (Biogasproduktion) aus festen Substanzgemischen unterschiedlicher Art entwickelt worden (z.B. bestimmte Fraktionen kommunaler Abfälle). Diese zweiphasigen technischen Prozesse erfordern entsprechend eine hydrolytisch-acidogene Stufe und eine methanogene Stufe [Beccari et al. 1996, Guerrero et al. 1999, De Baere 2000, Ghosh et al. 2000, Mata-Alvarez et al. 2000, Pavan et al. 2000, Vieitez et al. 2000]. Für diese und frühere Arbeiten stellte die zweiphasige Prozessgestaltung eine prozessoptimierende Fortentwicklung einstufiger Verfahren dar und zielte vorrangig auf eine Verbesserung der Umsatzraten organischer Moleküle. Die Verbesserungen der Prozesse wurden in erster Linie erreicht durch

separate Optimierung von Acidogenese und Methanogenese begründet in den unterschiedlichen physikalisch-chemischen Ansprüchen und Wachstumsraten der beteiligten Organismen [Jarvis et al. 1995, Hwang und Hansen 1997, Ince 1998, Demirel und Yenigün 2002].

Mit anderer Zielsetzung aber unter Ausnutzung ähnlicher mikrobiellen Charakteristika fand die Prozessoptimierung bei Kopplung von Hydrolyse, Acidogenese und Sulfatreduktion statt. Die Abweichung in der Zielsetzung resultierte jedoch zwangsläufig in anderen verfahrenstechnischen Aufgaben. Die zweistufige Prozessgestaltung (R_1 : *Aktive Elution*, Hydrolyse/Acidogenese, R_2 : Sulfatreduktion und Schwermetalleliminierung), die den oben genannten Ansätzen vergleichbar war, erwies sich im Rahmen dieser Arbeit als geeignete Grundlage zur Prozessgestaltung. Die verfahrenstechnische Behandlung des schwermetallbelasteten Wassers beruhte dabei im Kern auf der Stabilisierung des Stoffwechseltyps der mikrobiellen Sulfatreduktion in Symbiose und Konkurrenz zu anderen Stoffwechseltypen. SRB sind angewiesen auf die Bereitstellung von Substrat, d.h. Energie infolge hydrolytischer und fermentativer Prozesse auf der einen Seite und konkurrieren andererseits um Reduktionsäquivalente mit MPB und homoacetogenen Mikroorganismen [Isa et al. 1985, Colleran et al. 1994, van Houten et al. 1995, Raskin et al. 1996, Omil et al. 1998, Oude Elferink et al. 1998]. Diese Prozesse, Hydrolyse und Fermentation gegenüber Sulfatreduktion, weichen in ihren optimalen Umgebungsbedingungen ebenfalls so voneinander ab, dass die Stabilisierung eines technisch einstufigen Verfahrens unter Prämisse des weitgehenden Verzichtes auf regelungstechnische Eingriffe nicht erreicht wurde (schwankende Substratkonzentrationen, Versauerung durch Bildung von VFA; vgl. Abschnitt 3.3). Die Ergebnisse zeigten damit, dass die zweistufige Einteilung des Verfahrens nicht nur eindeutige Vorteile gegenüber bisherigen einstufigen Verfahrenskonzeptionen unter Verwendung *Fester Substanzgemische* hatte [u.a. Harris und Ragusa 2000, 2001] (vgl. Abschnitt 4.8), sondern möglicherweise zwingend notwendig war.

Die Optimierung der Stoffumsätze im Sinne einer Erhöhung von Umsatzraten war Teil der Zielstellung, die mit der zweistufigen Verfahrenskonzeption verfolgt wurde. Da jedoch bei Behandlung gering schwermetallbelasteter Wässer keine hohen Umsatzraten (sowohl bezüglich Sulfatreduktion als auch Substratumsatz) benötigt wurden, war dieses Ziel entgegen den oben genannten Arbeiten zur Biogasgewinnung zweitrangig. Vorrangig wurde der Vorteil des zweistufigen Systems in der Möglichkeit zur Selbststabilisierung der relevanten Prozesse gesehen, wodurch die notwendige Langzeitstabilisierung im Sinne eines *Passiven Verfahrens* erreicht und so eine kostengünstige verfahrenstechnische Umsetzung ermöglicht werden sollte. Unterschiedliche Teilaspekte trugen zu dieser Selbststabilisierung bei. Der erste Aspekt war die Optimierung bzw. Selektion einer geeigneten Mischkultur, der zweite Aspekt war die gezielte Limitierung der Substratfreisetzung und damit der Substratverfügbarkeit infolge der *Aktiven Elution*. Ein weiterer Aspekt war die Ausnutzung der Bildung organischer Säuren an sich zur Inhibierung destabilisierender

mikrobieller Prozesse infolge der prinzipiell erwünschten Versauerung. Ein letzter Aspekt, der in seiner Wirksamkeit nicht abschließend beurteilt werden konnte, wurde in einem stabilisierendem Einfluss metallsulfidischer Sedimente vermutet (vgl. Abschnitt 4.5).

Die gewählte Strategie des Einsatzes einer komplexen Mischkultur aus unterschiedlichen technischen anaeroben Prozessen stellte sich als geeignet heraus, die gewünschten Stoffwechseleigenschaften einschließlich mikrobieller Sulfatreduktion im zweistufigen Reaktorsystem zu selektieren und war gegenüber dem Einsatz von Isolaten aus Gründen der Prozessstabilität zu favorisieren. Auch an anderer Stelle wurde der Einsatz technischer, nicht-spezialisierter Kulturen (UASB-Schlamm) zur Erhöhung der sulfidogenen Aktivität in *Passiven Prozessen* hervorgehoben [La et al. 2003], obwohl die Vorgehensweise des Einsatzes von Isolaten weit verbreitet ist.

Der Einsatz der Silage, also eines vorvergorenen Substanzgemisches, hat gegenüber den meisten bisher getesteten Substraten für das Verfahren eindeutige Vorteile, da gerade durch die hohe Verfügbarkeit eluierbarer organischer Säuren in keiner Versuchsphase ein Mangel an Reduktionsäquivalenten für die mikrobielle Sulfatreduktion herrschte. So wurden bei Vorlage von frischem FSG erwartungsgemäß hohe Lactatkonzentrationen nachgewiesen [Jarvis et al. 1995] und eines der besten Substrate für SRB zur Verfügung gestellt [z.B. Singleton 1993]. Lange Startphasen bzw. Stabilisierungsphasen, die i.d.R. ein entscheidendes technisches Problem bei der anaeroben Abwasserbehandlung sind, konnten damit beim Austausch von ausgezehrter Silage vollständig vermieden werden [Omil et al. 1998].

Bei Vorlage von ca. 82 g l^{-1} TS Silage und einer Verweilzeit von 68,7 h in R, wurden DOC-Konzentration von anfänglich mehr als $1,6 \text{ g l}^{-1}$ nachgewiesen. Die DOC-Konzentration fiel im weiteren Verlauf der *Aktiven Elution* stetig quasi-linear ab. Dieser Verlauf der Elution von DOC zeigte, dass ein Abbau der Silage effektiv kinetisch limitiert war. Dies konnte einerseits durch eine prinzipiell langsame Hydrolysereaktion begründet werden bzw. durch eine zusätzliche Limitierung der Gesamtreaktion aus Hydrolyse und Fermentation infolge der hohen Protonenkonzentration (pH 4,0 - 4,2). Der DOC in der hydrolytisch-fermentativen Stufe R₁, der im Prozessverlauf aus der Silage eluiert wurde, konnte in den unterschiedlichen Prozessphasen als Acetat, Propionat, Butyrat, Valerat, Caproat in unterschiedlichen prozentualen Anteilen nahezu vollständig erfasst werden (vgl. Abschnitt 3.4.5, Abbildung 3.20). Das heißt, dass im Anschluss an die hydrolytische Freisetzung energiereiche organische Verbindungen zunächst fermentativ zu VFA umgesetzt wurden. Das Spektrum an VFA und deren Konzentrationen konnten dabei als typisch für technische und auch natürliche acidogene Prozesse angesehen werden [z.B. Ren et al. 1997, Guerrero et al. 1999, Glissmann und Conrad 2000]. Die Bildung der einzelnen VFA ist i.d.R. leicht beeinflussbar, so dass sich die jeweiligen Ausbeuten im Falle von Prozessschwankungen (u.a. pH₂, pH, Temperatur) verändern können [Kisaalita et al. 1989, Hwang und Hansen 1997, Lay 2000, Fang und Liu 2002]. Generell galt, dass längerkettige Fettsäuren in geringeren Konzentrationen nachgewiesen wurden, was nach derzeitigen

Erkenntnissen auf Schwankungen des Wasserstoffpartialdruckes und eine veränderte NADH-Regenerierung der fermentativen Organismen zurückgeführt wurde [Ruzicka 1996a/b, Schulz und Conrad 1996]. Dagegen konnten zu keinem Zeitpunkt signifikante Alkoholkonzentrationen festgestellt werden, was den Schluss zuließ, dass alkoholische Gärung unter den Prozessbedingungen nicht relevant war. Diese Feststellung steht z.T. im Widerspruch zu anderen Studien, in denen mit sinkendem pH-Wert (4,0-4,5) alkoholische Gärungsprodukte in erhöhter Konzentration nachgewiesen wurden [Ren et al. 1997, Lay 2000].

Bei gleichzeitiger Optimierung der Stoffumsätze wurde mit der sowohl technischen als auch mikrobiologischen Trennung von R_1 und R_2 eine Stabilisierung des Gesamtprozesses durch Ausnutzung des Versauerungspotenzials der hydrolytisch/acidogenen Stufe R_1 erreicht. Durch die Stabilisierung des pH-Wertes in R_1 bei ca. 4,0 bis 4,2 wurden mikrobielle Prozesse generell kinetisch limitiert und mikrobielle Sulfatreduktion in dieser Stufe nahezu vollständig unterdrückt. Dies war beabsichtigt, da sulfidogene Aktivität gerade in acidogenen Prozessstufen zur Produktion toxischer H_2S -Konzentrationen führen kann [Maillacheruvu et al. 1993, Mizuno et al. 1998, O'Flaherty und Colleran 1998, O'Flaherty et al. 1999]. Weitere Gründe waren, dass aus entsorgungstechnischer Sicht vermieden werden sollte, dass verbrauchtes FSG mit Schwermetallsulfiden kontaminiert war und dass bei Austausch des FSG die Sulfatreduktion und damit die Schwermetalleliminierung gestört wurde.

Alle oben genannten VFA sind an anderer Stelle als potenzielle Substrate für mikrobielle Sulfatreduktion beschrieben worden [z.B. Widdel 1980, Boschker et al. 2001]. Die Effizienz der Sulfatreduktion konnte im Prozessverlauf bei einer hydraulischen Verweilzeit von 68,7 h in R_1 und 40,4 h in R_2 auf über 80% gesteigert werden und so die Sulfatkonzentration mit einer durchschnittlichen Umsatzrate von ca. 0,31 mMol Sulfat $^{l^{-1}h^{-1}}$ um 11,5 bis 13,3 mM gesenkt werden (vgl. Abschnitt 3.4.5, Abbildung 3.17). Dabei konnte eine maximale Trennung der Stufen R_1 und R_2 von ca. 95% bezogen auf die Sulfatreduktion erreicht werden. Der Ausbeutekoeffizient (mMol Sulfat / mMol DOC) betrug dabei durchschnittlich 0,21. Alle relevanten gelösten organischen Verbindungen (Propionat, Butyrat, Valerat, Caproat, Lactat) konnten effektiv mit Sulfat als terminalem Elektronenakzeptor umgesetzt und in R_2 vollständig abgebaut werden. Lediglich der Acetatverbrauch konnte weniger effektiv an die Sulfatreduktion gekoppelt werden. Acetat wurde in R_2 nur zu ca. 61% abgebaut (vgl. Abschnitt 3.4.5, Abbildung 3.21). Es kann angenommen werden, dass die effektive Kopplung von Fettsäureoxidation und Sulfatreduktion zumindest anteilig als syntrophe Reaktion ablief und auf einem Elektronentransfer zwischen fermentativen und sulfatreduzierenden Organismen beruhte. Dieser Elektronentransfer verlief vermutlich zumindest anteilig via *Interspecies Hydrogen Transfer* (vgl. Abschnitte 4.4 und 4.5).

Aufbauend auf dem Potenzial zur Selbststabilisierung wurden technische Möglichkeiten und Variablen für Regelungstechnische Eingriffe in instabilen Prozessphasen ermittelt und

überprüft. Eine Selbststabilisierung des *Passiven Verfahrens* konnte in denjenigen Phasen eindeutig nicht gewährleistet werden, in denen es zu einem Anstieg des pH-Wertes in R_1 kam. Dies kann zurückgeführt werden auf

- 1) eine fehlende Limitierung der kohlenstoffzehrenden Prozesse als direkte Folge des steigenden pH-Wertes,
- 2) eine Limitierung der fermentativen Prozesse infolge des steigenden Wasserstoffpartialdruckes,
- 3) ein Einsetzen mikrobieller Sulfatreduktion und somit eines Neutralisationsprozesses unter Bildung von toxischem H_2S ,
- 4) verbrauchtes FSG (Silage) aus dem kein löslicher Kohlenstoff durch enzymatische Hydrolyse freigesetzt werden konnte.

Es ist offensichtlich, dass pH-Wert und Wasserstoffpartialdruck als relevante Variablen bei fermentativen Prozessen zunächst in direkter Abhängigkeit stehen und die genannten Punkte 1) bis 3) letztlich nicht voneinander zu trennen sind (vgl. Formeln zum fermentativen Substratumsatz in Abschnitt 4.6.1). So war die zentrale Variable bezogen auf den Gesamtprozess in der Konzentration an gelöstem H_2 zu sehen, wodurch mit steigendem Wasserstoffpartialdruck in R_1 fermentative Prozesse inhibiert und unerwünschte hydrogenotrophe Sulfatreduktion ermöglicht, mit sinkendem Wasserstoffpartialdruck in R_1 ebendiese vermindert wurde. Der Einfluss von H_2 auf fermentative Prozesse insbesonders beim acetogenen Abbau längerkettiger VFA ist dabei weitreichend bekannt und muss in technischen Prozessen kontrolliert werden [Harper und Pohland 1986, Labib et al. 1992, Mizuno et al. 1998]. Verfahrenstechnisches Ziel musste es also sein, sowohl einen niedrigen pH-Wert in R_1 zu stabilisieren und den Wasserstoffpartialdruck in R_1 zu minimieren. Diese Ziele wurden durch kontinuierliche Begasung von R_1 mit N_2 erreicht. Durch die kontinuierliche Stripping von H_2 kann der entscheidende inhibierende Einfluss auf fermentative, hydrogenogene Prozesse gemindert und die Acidogenese stabilisiert werden. Im Abschnitt 4.6 wird im Rahmen der Modellbildung und Simulation des Prozesses näher auf die quantitativen Stoffumsätze eingegangen werden.

4.2 Schwermetalleliminierung

Alle prinzipiell relevanten Mechanismen zur Metalleliminierung im Gesamtprozess waren chemische Prozesse und im weiteren Sinne als Fällungsprozesse oder deren Folge einzuordnen. Die sulfidische Fällung in R_2 stellte dabei den Kern des Prozesses dar. Die einzige prinzipiell für R_1 relevante Möglichkeit der Schwermetalleliminierung mittels Biosorption an der Oberfläche der Silage stellte sich infolge verschiedener Sorptionsversuche für alle untersuchten Metallionen als vernachlässigbar heraus (vgl. Abschnitt 3.2, Tabelle 3.5).

In Anlehnung an die hohen Sulfatreduktionsraten, die eine vollständige Eliminierung

der Metallkonzentrationen ermöglichten (vgl. Abschnitt 3.4.5, Abbildung 3.29), war die Tauglichkeit des Prozesses zur Schwermetalleliminierung durch toxische Einflüsse direkt ausgehend von den jeweiligen Schwermetallkonzentrationen zu überprüfen. Dabei konnte für unterschiedliche Schwermetallionen in typischen Konzentrationen für NMD bisher keine prozesstoxische Wirkung festgestellt werden (vgl. Abschnitt 3.4.5, Abbildung 3.27 / 3.28). Der geringe Einfluss auf den Prozessverlauf konnte dabei u.a. auf die Adaptation der Mikroorganismen selbst zurückgeführt werden oder in reaktions-technischen Besonderheiten, z.B. Biofilmbildung und der Besiedelung von geschützten Mikrohabitaten gesehen werden. Andere Studien haben deutlichere Einflüsse erhöhter Schwermetallkonzentrationen u.a. auch auf zweiphasige acidogene / methanogene Prozesse festgestellt, wobei z.B. Nickel, Kupfer und Zink zu einer Minderung der Biogasbildung im Gesamtprozess führten [Leighton und Forster 1997, Demirel und Yenigün 2002]. Dabei ist zu beachten, dass Schwermetalltoxizität aus prozesstechnischer Sicht immer als Funktion anderer Variablen, am deutlichsten des pH-Wertes, verstanden werden muss, so dass ein toxischer Einfluss auf den Gesamtprozess zunächst ausgehend von den Auswirkungen auf die acidogene Phase untersucht werden musste. Bei neutralem pH gelingt in vielen Fällen der anaeroben biotechnologischen Abwasserreinigung eine Adaptation der Mikroorganismen an erhöhte Schwermetallkonzentrationen [Green et al. 1998, Demirel und Yenigün 2002] aber auch AMD-typische saure metallbelastete Abwässer bewirken i. Allg. keine vollständige Inhibierung der sulfidogenen Aktivität und werden deshalb als behandelbar durch biotechnologische Sulfatreduktion eingestuft [Garcia et al. 2001, Kaksonen et al. 2003]. Auch die Temperatur wurde als Variable eingestuft, die die Schwermetalltoxizität in anaeroben Prozessen beeinflusst [Sai Ram et al. 2000]. Mit Blick auf die unterschiedlichen pH-Werte ist auch für die entwickelte Verfahrenskonzeption eine kritische Schwermetalltoxizität zunächst für die hydrolytisch / fermentative Stufe R₁ zu erwarten und weniger in der Sulfatreduktionsstufe R₂. Dies wird zusätzlich und darüber hinaus durch die Verbreitung von SRB an unterschiedlichen Standorten unterstützt, die u.a. mit Bergbauaktivitäten in Verbindung gebracht werden können [Johnson 1995, Fortin et al. 2000]. Diesen Untersuchungen kann entnommen werden, dass SRB auch an extremen Standorten mit niedrigen pH-Werten, geringen Substratkonzentrationen, aber auch hohen Schwermetallkonzentrationen vorzufinden sind. In verschiedenen Untersuchungen, die sich thematisch mit der Reinigung von Bergbauwässern durch die Aktivität von SRB beschäftigten, wurde teilweise eine in unterschiedlichem Maße hohe Toleranz der Organismen gegenüber hohen Schwermetallkonzentrationen bzw. die Fähigkeit hohe Metallfrachten aus Abwässern zu entfernen festgestellt (z.B. 1,0 - 8,0 mM Cu(II), Zn(II), Ni(II), Pb(II) [El Bayoumy et al. 1999], 2,0 mM Cu(II) [Song et al. 1998], 9,4 mM Ni(II) [Fortin et al. 1994], 20mM Ni(II) [Hammack und Edenborn 1992], ~16 mM Cu(II) [Karnachuk et al. 2003], ~4,0 mM Zn(II) [Tuppurainen et al. 2002]). Diesen Ergebnissen stehen andere Untersuchungen entgegen, in denen bereits

Schwermetallkonzentrationen unterhalb der in dieser Arbeit eingesetzten Konzentrationen toxische Effekte hervorriefen [Utgikar et al. 2001, Sani et al. 2003]. Diese technisch orientierten Untersuchungen geben i.d.R. jedoch wenig Aufschluss über mögliche Resistenzmechanismen oder auch Mechanismen der Schwermetalleliminierung (möglicherweise ebenfalls als *Resistenzmechanismus* einzustufen) und machen eine Quantifizierung des tatsächlich inhibierenden bzw. toxischen Einflusses schwer zugänglich [Utgikar et al. 2001, Utgikar et al. 2003].

So blieb letztlich ungeklärt, ob die stabile Stoffwechselaktivität der SRB unter den beschriebenen Bedingungen infolge eigener Resistenzmechanismen erhalten blieb oder die stabilisierenden Einflüsse von der Umgebung der Zellen ausgingen und in der Ausprägung geschützter Habitate (z.B. Biofilme, sulfidische Präzipitate etc.) zu sehen waren.

4.3 Möglichkeiten und Grenzen zur technischen Umsetzung

4.3.1 Elutionsstufe (R_1)

Es kann vermutet werden, dass die Prozessleistung über ein breites Spektrum an Betriebsbedingungen aufrechterhalten werden kann. Zucker können i.d.R. bei unterschiedlichen Verweilzeiten (HRT) vollständig fermentativ umgesetzt werden, ohne dass eine maßgebliche Veränderung des Spektrums an VFA stattfindet. Es ist anzunehmen, dass durch Variation des Verhältnisses Feststoff zu Volumen der flüssigen Phase in R_1 bzw. durch Verkürzung der hydraulischen Verweilzeiten die Standzeiten des FSG in R_1 angepasst an den Anwendungsfall maßgeblich verlängert werden können. Die im Rahmen dieser Arbeit erzielten Sulfatreduktionsraten lagen erheblich über den tatsächlich benötigten und damit zur Metallelimination anzustrebenden Werten. Es wurde dargestellt, dass die Prozessstabilität in direkter Abhängigkeit zum H_2 -Partialdruck stand und eine Stripping von gelöstem Wasserstoff notwendig war. Damit ist mit der Beeinflussung des Phasenübergangs des gelösten Gases eine Möglichkeit der Anpassung an den jeweiligen Anwendungsfall gegeben.

Die Schlammverweilzeit (SRT) ist bei Gestaltung der Reaktoren als Festbettreaktoren infolge von Schlammrückhalt durch Biofilmbildung nicht als kritische Variable anzusehen. Darüber hinaus wurde der Einfluss der SRT auf hydrolytisch-acidogene Prozesse als gering eingestuft [Elefsiniotis und Oldham 1994].

Der pH in der hydrolytisch/acidogenen Stufe musste zwangsläufig niedrig (pH 4,0 - 4,5) gehalten werden, die Stufe also nahe der Versauerung betrieben werden, da ansonsten mikrobielle Sulfatreduktion in dieser Stufe nicht verhindert werden konnte. Eine vollständige Vermeidung der Sulfatreduktion konnte jedoch wie erwartet nicht erreicht werden. Es konnte festgestellt werden, dass Lactat auch bei niedrigen pH-Werten als Elektronendonator genutzt wurde. Es muss aufgrund anderer Untersuchungen vermutet werden, dass dieser Effekt auch bei weiterer pH-Senkung (pH 3,00 - 3,25) nicht auszuschließen ist [Elliott et al.

1998, Kaksonen et al. 2003]. Auch muss mit einer Nutzung von H_2 unter sauren Bedingungen als Elektronendonator für Sulfatreduktion auch bei Stripfung des Gases gerechnet werden [Foucher et al. 2001]. Die Entsorgung des diskontinuierlich anfallenden verbrauchten *Festen Substanzgemisches* wird daher in Abhängigkeit von der tatsächlichen Schwermetallbelastung vorgenommen werden müssen. Eventuell wird aus Kostengründen eine saure Wäsche und damit eine Remobilisierung der Schwermetalle vorgenommen werden müssen. Das anfallende Konzentrat sollte nahezu kostenneutral entsorgbar sein.

Es wurde bisher nicht untersucht, inwieweit durch den Abbau von Silage zusätzlich notwendige Nährstoffe, vorrangig Ammonium und Phosphat, sowie Spurenelemente bereitgestellt werden können. Im Falle einer Limitierung muss die Silage vermutlich im Gemisch mit einem anderen FSG eingesetzt werden, beispielsweise durch Zugabe von Abprodukten aus landwirtschaftlicher Tierhaltung.

Es muss vermutet werden, dass die Prozesseleistung sich im Freilandbetrieb bei niedrigen Temperaturen verändert [Rebac et al. 1999]. Mit einer maßgeblichen Störung muss jedoch bei niedrigen Beladungsraten (OLR) nicht gerechnet werden, solange ein ausreichender Biomasserrückhalt gewährleistet wird. Es wurde unter solchen Bedingungen u.a. von stabilen Prozessausbeuten bei Temperaturen bis 3°C berichtet [Lettinga et al. 1999].

4.3.2 Sulfatreduktionsstufe (R_2)

Wie im oberen Abschnitt dargestellt liegen die erzielten Sulfatreduktionsraten weitgehend über den benötigten Werten. Eine Verkürzung der Verweilzeiten (HRT) zur Erhöhung des Durchsatzes bei der Behandlung größerer Volumenströme mit niedrigen Schwermetallbelastungen kann damit in den meisten Anwendungsfällen vorgenommen werden. Eine weitere Optimierung des Gesamtprozesses kann darüber hinaus durch die technische Gleichstromführung von Gas- und Flüssigphase erzielt werden, da so der Verlust von Reduktionsäquivalenten in Form von H_2 für hydrogenotrophe Sulfatreduktion vermieden werden kann (Abschnitt 4.7).

Der pH-Wert in R_2 musste entgegen dem sauren Milieu in R_1 im neutralen Bereich liegen, da ansonsten mit Limitierung bzw. Inhibierung des Sulfatumsatzes gerechnet werden musste und es zum Prozessversagen hätte kommen können. In den bisherigen Untersuchungen konnte keine tatsächliche Gefahr einer Versauerung von R_2 festgestellt werden, jedoch musste für diesen Fall die Möglichkeit eines technischen Eingriffs vorgesehen werden. Generell müssen bei der technischen Umsetzung die Prozessstufen R_1 und R_2 für den speziellen Anwendungsfall aufeinander abgestimmt werden.

Für die Schlammverweilzeit (SRT) und die Bereitstellung von Nährstoffen und Spurenelementen gelten ähnliche Annahmen wie für R_1 . Es kann ebenso angenommen werden, dass R_2 über einen weiten Temperaturbereich betrieben werden kann. In *Constructed Wetlands* wurde beispielsweise sulfidogene Aktivität bei Wassertemperaturen

von ca. 1°C festgestellt [Fortin et al. 2000]. In *Reaktiven Wänden* wurde Sulfatreduktion mit verminderten Raten bei 2°C festgestellt [Benner et al. 2002].

4.4 Kopplung der Prozesse - Syntrophie und *Interspecies Hydrogen Transfer*

Trotz des typischen breiten Substratspektrums ist in vielen Systemen mikrobielle Sulfatreduktion als Bestandteil syntropher Assozierung an vorrangig fermentative Prozesse gekoppelt. Als elektronenübertragendes Intermediat nimmt H_2 in solchen Systemen eine zentrale Rolle ein [Traore et al. 1983, Heijthuisen und Hansen 1986, Öztürk et al. 1987, Thiele et al. 1988, Boone et al. 1989, Muralidharan et al. 1997, Cayol et al. 2002]. Für alle prozessrelevanten organischen Verbindungen sind sulfatreduzierende Organismen beschrieben, die zur Oxidation der entsprechenden Verbindung mit Sulfat als terminalem Elektronenakzeptor befähigt sind [Widdel 1980, Colleran et al. 1995]. Aufgrund der langen Start- und Stabilisierungsphasen, die bei der Verfahrensentwicklung beobachtet wurden, wurde jedoch vermutet, dass hier Zeit zur Ausbildung syntropher Agglomerate benötigt wurde und somit H_2 -Transfer eine zentrale Rolle für das mikrobielle System hatte.

Die Vermutung eines hohen Stellenwertes syntropher Gemeinschaften aus fermentativen Organismen auf der einen und sulfatreduzierenden Organismen auf der anderen Seite musste im Rahmen dieser Arbeit hypothetisch bleiben, da es an dieser Stelle aufgrund der Komplexität des Systems eines völlig neuen methodischen Ansatzes bedurfte hätte, diese Frage abschließend zu klären. Zusätzlich zu den oben genannten langen Start- und Stabilisierungsphasen und den Kenntnissen aus anderen Studien wurde die Vermutung durch Ergebnisse aus Modellierung und Simulation des Prozesses (vgl. Abschnitt 4.6) bestärkt. In der Simulation wurde die hohe Effektivität und Kinetik der Stoffumsätze (besonders von Acetat) im Vergleich zu Literaturangaben deutlich. Interessant war bei Vermutung eines elektronenübertragenden Schrittes der auf hohem Niveau stabile Ausbeutekoeffizient. Trotz abnehmender Gesamtkonzentrationen an DOC und Veränderungen des VFA-Spektrums erschien die Verfügbarkeit an Elektronendonator kaum beeinträchtigt. Dies erschien zusätzlich aufgrund der geringen Löslichkeit von H_2 und Diffusionslimitationen zwischen den Mikroorganismen in Verbindung zur Gasstripping wenig plausibel [Giraldo-Gomez et al. 1992]. Um den effektiven und stabilen H_2 -Transfer zu gewährleisten, musste eine sehr enge Assozierung der Organismen erreichbar sein und erreicht worden sein. Öztürk et al. [1987] berichteten z.B. zwar von einer 95%igen Effektivität des methanogenen H_2 -Umsatzes in mikrobiellen Agglomeraten via *Interspecies Hydrogen Transfer*. Jedoch wurde diese Studie mit einem Modellsystem unter Verwendung von Ethanol durchgeführt und somit Schwankungen in der DOC-Zusammensetzung und DOC-Konzentration vermieden. In dieser Arbeit war aufgrund solcher Schwankungen selbst bei sehr enger Assozierung der Organismen die Effektivität des Prozesses über-

raschend, so dass sich die Frage nach eventuellen weiteren stabilisierenden Systemfaktoren stellte. Diese wurden in einem Einfluss hoher Konzentrationen metall-sulfidischer Verbindungen vermutet.

4.5 Einfluss von Schwermetallsulfiden auf anaerobe Prozesse

Im Rahmen der Ergebnisdarstellung (Abschnitt 3.5) wurde eine These aufgestellt, die einen technisch relevanten Einfluss gefällter metallsulfidischer Verbindungen auf mikrobielle Stoffflüsse postulierte. Aus der These konnte für die besondere technische Situation abgeleitet werden, dass die anwesenden Metallsulfide

- a) eine Form der Energiespeicherung im technischen Prozess übernehmen,
- b) eine Veränderung der thermodynamischen Kopplung syntropher mikrobieller Gemeinschaften bewirken,
- c) eine Prozessoszillation in Fällen der Anaeroben Abwasserbehandlung bewirken können.

Sofern gültig wäre die These auch über den in dieser Arbeit betrachteten technischen Prozess hinaus von Bedeutung.

Ein kontrovers diskutiertes Thema der anaeroben Mikrobiologie ist der energetische und mechanistische Ablauf unterschiedlicher mikrobiell katalysierter Reaktionen nahe dem thermodynamischen Gleichgewicht ($\Delta G' = 0$). Hierzu zählen unter bestimmten Voraussetzungen beispielsweise fermentative Umsetzungen von VFA, Alkoholen und verschiedenen aromatischen Verbindungen, aber auch weniger erforschte Prozesse wie *Anaerobe Methanoxidation* [Niewöhner et al. 1998, Boetius et al. 2000, Jorgensen et al. 2001, Peckmann et al. 2001, Schouten et al. 2001, Michaelis et al. 2002]. Diese Stoffumsätze unterschiedlicher ökophysiologisch relevanter Mikroorganismen beruhen dabei i.d.R. auf einer obligaten Symbiose unterschiedlicher Mikroorganismen, die als Syntrophie bezeichnet wird [Schink 1997].

Strittig ist bisher, welcher minimale Betrag für $\Delta G'$ als kleinstes für die Zelle nutzbares Energiequantum anzusehen ist. Es wird ein minimales $\Delta G'$ von ca. -20 kJ/mol angenommen, um Energie konservieren zu können [Schink 1997, Kleerebezem und Stams 2000]. Diese Annahme wurde in unterschiedlichen Untersuchungen bestätigt [Schink 1997, Hoehler et al. 1998]. Es existieren jedoch auch verschiedene Ausnahmen, in denen Prozesse offensichtlich wesentlich näher am thermodynamischen Gleichgewicht ablaufen [Harder 1997, Krylova und Conrad 1998, Kleerebezem und Stams 2000, Hoehler 2001, Yao und Conrad 2001, Jackson und McInerney 2002]. Zur Klärung dieser Abweichungen wurden unterschiedliche Theorien vorgeschlagen.

Zunächst beruht der oben genannte Wert $\Delta G'$ (ca. -20 kJ/Mol) auf vereinfachten Annahmen, gegen die eingewandt wurde, dass es nahe dem thermodynamischen Gleichgewicht zum einen zu einer Entkopplung von Katabolismus und Anabolismus komme und zum anderen ATP-Verbrauch und Elektronentranslokation nicht eindeutig stöchiometrisch

gekoppelt seien und infolgedessen auch geringere Beträge freier Energie genutzt werden könnten [Kleerebezem und Stams 2000, Hoehler et al. 2001].

Neben der Optimierung der intrazellulären Energiekonservierung wird im Falle syntropher Prozesse der Aspekt der Strukturierung der einzelnen Zellen in Agglomeraten zur Optimierung des *Interspecies Electron Transfer* hervorgehoben. Die Annahme einer homogenen Verteilung der gelösten Elektronendonoren ist für die betrachteten Systeme i.d.R. nicht zulässig. Es müssen diffusionsbedingte Konzentrationsgradienten berücksichtigt werden. Im Falle von *Interspecies Hydrogen Transfer* muss also von einer Assoziation von hydrogenogenen und hydrogenotrophen Organismen unter Ausnutzung eines H₂-Gradienten ausgegangen werden [Giraldo-Gomez et al. 1992, Boetius et al. 2000].

Interspecies Hydrogen Transfer ist dabei die bekannteste Form von Elektronentransfer in anaeroben mikrobiellen Systemen [Lovley und Goodwin 1988, Davidova und Stams 1996, Morvam et al. 1996, Cord-Ruwisch et al. 1998, Cayol et al. 2002]. Weitere elektronenübertragende Verbindungen können Formiat und auch Acetat sein [Boone et al. 1989, Stams und Dong 1995]. Eine Reihe weiterer Verbindungen wurden als elektronenübertragend eingestuft. Hierzu zählen extrazelluläre Cytochrome [Cord-Ruwisch et al. 1998, Seeliger et al. 1998, Lloyd et al. 1999], Huminstoffe und Quinone [Newman und Kolter 2000, Finneran und Lovley 2001, Childers et al. 2002, Straub und Schink 2003], Cystein und Sulfid [Kaden et al. 2002]. Die Kopplung der syntrophen Prozesse durch diese potenziell elektronenübertragenden Verbindungen erschweren die energetische Bilanzierung des Gesamtprozesses wiederum, da zumindest Elektronenübertragung, d.h. die Reduktion des elektronenübertragenden Intermediates, und die Diffusion der Verbindungen zwischen den Organismen zu einem weiteren Verlust an freier Energie führen müssen [Sorensen et al. 2001].

Die Betrachtung der problematischen energetischen Situation auf der einen Seite und der Vielzahl nachgewiesener mikrobieller Reaktionen unter diesen extremen Bedingungen auf der anderen Seite führt zu der Frage, ob nicht neben den zahlreichen speziell gekoppelten Systemen, die oben genannt wurden, zunächst eine generellere Möglichkeit zur Kopplung anaerober syntropher Prozesse vorhanden sein muss. Eine solche Möglichkeit könnte in einer physisorptiven Aktivität von metallsulfidischen Sedimenten gegenüber molekularem Wasserstoff bestehen. Dieser Aspekt blieb bisher in der Literatur unbeachtet.

Bei allen anaeroben mikrobiellen Prozessen sowohl in natürlichen als auch in technischen Umgebungen kann vermutet werden, dass metallsulfidische Verbindungen im System vorhanden, wenn nicht sogar direkt in die Strukturen, d.h. mikrobielle Aggregate mehrerer Zellen, eingebunden sind. Die Strukturierung der Bakterien (vgl. Abbildung 3.33 a-f), d.h. die Biofilmbildung an den anorganischen Oberflächen, würde nicht alleine in Relation der einzelnen Organismen zueinander ablaufen [Boetius et al. 2000], sondern auch und nicht minder zu den anorganischen Oberflächen (vgl. Abschnitt 3.5).

Indizien hierzu wurden in verschiedenen Experimenten gefunden. Es wurde eindeutig gezeigt, dass eine Veränderung der mikrobiellen Prozesse in Relation stand zur

Anwesenheit der metallsulfidischen Schlämme und deren Kontakt mit molekularem Wasserstoff. Gleichzeitig konnte nicht festgestellt werden, dass die Zugabe der Schlämme durch andere chemische Einflüsse auf die Prozesse wirkte. So konnte weder eine Veränderung des pH-Wertes oder des Redoxpotenzials, noch eine Freisetzung von Schwermetallen aus den Schlämmen die Veränderung der Prozesse herbeigeführt haben. Ebenfalls konnte ausgeschlossen werden, dass die Schlämme selbst an der Bildung von H_2 in den relevanten Versuchsphasen beteiligt waren. Nicht ausgeschlossen werden konnte der Einfluss einer mikrobiellen Kontamination der zugegebenen Schlämme und ein Einfluss von potenziellen gelösten Elektronenüberträgern, z.B. Cystein und Sulfid. Diese Einflüsse konnten jedoch nicht alleine entscheidend sein, da die maßgeblichen Abweichungen innerhalb der Versuchsserien mit und ohne Trennung von Biomasse und sulfidischem Schlamm hierdurch nicht erklärt werden konnten. In allen Versuchen mit instabilen Mischkulturen in frühen Wachstumsphasen konnte belegt werden, dass die Trennung von anorganischen Schlämmen und Biomasse mittels Dialyseschläuchen die Prozesse beeinflusste.

Verschiedene Angaben in der Literatur können als Argumente für die Gültigkeit der These gewertet werden. Bemerkenswert ist zum einen, dass es Probleme bei der Bilanzierung der anteiligen Methanogenese aus H_2 bzw. Acetat in natürlichen Systemen gab. Der Anteil der Methanogenese, die auf H_2 zurückgeführt wurde, war dabei zu hoch. Es wurde anmerkt dass es so zu sein schien, als existierten entweder unerkannte Senken für Acetat oder ebenso unerkannte Quellen für H_2 [Conrad 1999]. Die Bedeutung abiotischer H_2 -Quellen für hydrogenotrophe Reaktionen, die u.a. zur Erklärung dieser Abweichung angeführt wurden, wurde hoch eingestuft [Chapelle et al. 2002]. Die These einer reversiblen H_2 -Bindung in anaeroben Systemen könnte zur Klärung der Stoffflüsse beitragen.

Es wurde weiter von Untersuchungen berichtet, in denen nach einen Zeitraum von ca. 300 Tagen ein technischer Prozess zur Sulfatreduktion mit Benzoat zum Erliegen kam [Liu und Fang 1998]. Die Schlammpartikel wurden elektronenmikroskopisch untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass in den Agglomeraten erhebliche Mengen an metallsulfidischen Einschlüssen (NiS, CuS, FeS) zu finden waren. Die Autoren folgerten, dass die Schlämme die Diffusion der relevanten Verbindungen zu den Organismen verhinderten. Als interessant hervorgehoben wurde dabei jedoch ein eher geschichteter Aufbau der Schlammpartikel als ein homogener. Ein solcher Aufbau der Schlammpartikel wäre hingegen infolge von Prozessoszillationen durch alternierende H_2 -Konzentrationen in Verbindung zur kontinuierlichen Metallsulfidfällung zu erwarten.

Eine weitere Untersuchung, die sich mit den Auswirkungen metallsulfidischer Verbindungen auf mikrobielle Sulfatreduktion beschäftigte, hob ebenso den Aspekt einer möglichen Inhibierung durch Ablagerung der Präzipitate auf der Zelloberfläche hervor [Utgikar et al. 2002]. Die Autoren zogen aus den Ergebnissen mit Acetat als Kohlenstoff- und Energiequelle den Schluss, dass in biotechnologischen Prozessen durch jegliche Ausfällung von Metallsulfiden eine Prozessstörung ausgelöst werde. Dieses Ergebnis

steht in direktem Widerspruch zu den Ergebnissen in dieser Arbeit. Der von den Autoren beobachtete Effekt könnte hingegen auch darauf zurückzuführen sein, dass Acetat in der verwendeten anaeroben Mischkultur nicht direkt von SRB verwertet wurde, sondern es sich um eine syntrophe Reaktion handelte, die Homoacetogenese via *Interspecies Hydrogen Transfer* an Sulfatreduktion koppelte.

Es wurden an anderer Stelle Untersuchungen mit *Desulfovibrio desulfuricans* in Assoziation mit FeS-Partikeln durchgeführt, die zum Ergebnis hatten, dass assoziierte Zellen in sulfatarmen ($<50 \mu\text{M}$) Umgebungen mit Lactat als Kohlenstoff- und Energiequelle eine höhere Sulfatreduktionsrate zeigten als suspendierte freie Zellen in Systemen ohne Zugabe sulfidischer Schlämme. In sulfatreicher Umgebung hingegen wurden bei gleicher Lactatkonzentration höhere Raten durch suspendierte Zellen erzielt [Fukui und Takii, 1994]. Eine Erklärung hierfür könnte in einer Veränderung des eigentlichen Elektronenüberträgers liegen. In Abwesenheit des Elektronenakzeptors Sulfat muss ein syntroper fermentativer Umsatz des Lactats durch *Sulfatreduzierende Bakterien* unter Bildung von H_2 vermutet werden [Singleton 1993]. H_2 würde wiederum an der metallsulfidischen Oberfläche akkumulieren und immobilisierten SRB zur Verfügung stehen, um die geringeren Konzentrationen an verfügbarem Sulfat zu reduzieren. Lactat wäre in diesem Fall nicht der eigentliche Elektronendonator für die Sulfatreduktion, sondern H_2 .

Pelobacter sp., ein obligat anaerobes, fermentierendes Bakterium zeigte in Anwesenheit von FeS-beschichteten Glaskugeln eine deutlich verkürzte lag-Phase im Vergleich zu Ansätzen ohne FeS. Es konnte gezeigt werden, dass der Einfluss direkt vom amorphen FeS ausging, ein Einfluss des Redoxpotenzials, anderer löslicher Verbindungen und auch unbeschichteter Oberflächen konnte nicht festgestellt werden. Elektronenmikroskopische Aufnahmen zeigten eine sehr dichte Besiedelung der FeS-Oberflächen [Szewzyk 1987, Szewzyk und Schink 1991]. Eine Verkürzung der lag-Phase wurde im Rahmen dieser Arbeit bei der Kultivierung von *Syntrophomonas wolfei* spp. *wolfei* in Anwesenheit metallsulfidischer Schlämme festgestellt. (vgl. Abschnitt 3.5.6). Eine Erklärung könnte in der Veränderung des oberflächennahen Wasserstoffpartialdruckes und einer Verbesserung der Milieubedingungen für fermentative Bakterien vermutet werden.

Ein weiterer H_2 -abhängiger Prozess ist die *Anaerobe Dechlorierung* von Chlorethenen. Es wurde eine Untersuchung zur technisch einstufigen biotechnologischen Reinigung eines tetra/trichlorethen- und nickelbelasteten Sedimentes mittels einer anaeroben Mischkultur mit Lactat bzw. Methanol als Elektronendonator unter sulfatreduzierenden Bedingungen durchgeführt [Drzyzga et al. 2002]. Hier zeigte sich, dass in Anwesenheit von NiS eine vollständige Dechlorierung unter Bildung von Ethen und Ethan wesentlich früher einsetzte als in Abwesenheit von Ni(II) bzw. NiS. Es konnte hier jedoch aufgrund der Versuchsdurchführung nicht ausgeschlossen werden, dass dieses Ergebnis auf andere Einflüsse wie z.B. Substratdosierung zurückzuführen war.

Beachtet werden sollte auch eine Reihe von Untersuchungen, die metallsulfidische Verbindungen und ihre Bedeutung in angrenzenden Forschungsbereichen zum Thema hatten.

Die Bedeutung metallsulfidischer Verbindungen für die Elektronenübertragung im Stoffwechsel von Archaea und Bacteria ist wissenschaftlich erwiesen, sofern es sich um organometallische Strukturen als *Aktive Zentren* von Enzymen wie Hydrogenasen und CO-Dehydrogenasen handelt [Wu und Mandrand 1993, Ferry 1995, Fonticella-Camps et al. 1997, Ermler et al. 1998, Johnson 1998, Ragsdale 1998, Adams und Stiefel 2000, Dobbek et al. 2001, Marr et al. 2001, Nicolet et al. 2001, Thauer 2001, Trofantchouk 2001].

Metallsulfidische Verbindungen in ihrer vorrangig geologischen und hydrogeologischen Bedeutung sind ebenfalls Gegenstand der Forschung. Das wachsende Interesse auch an der biotischen Genese resultiert aus der Vielzahl der möglichen Bindungsformen und deren Verbreitung in wässrigen Lösungen bzw. amorphen und kristallinen Sedimenten, in denen die verbreitetste Verbindung das Pyrit (FeS_2) ist [Wilkin und Barnes 1996, Al et al. 1997, Davison et al. 1998, Herbert Jr. et al. 1998, Butler und Rickard, 2000, Cahill et al. 2000, Dai und Bradley 2001, Neal et al. 2001]. Auch biogen gefällte, nicht gealterte sulfidische Schlämme fanden Beachtung in der Literatur. Es wurde unter anderem hervorgehoben, dass die ungestörte metallsulfidische Oberfläche bei biogener Fällung sich in ihrer Größe erheblich von gealterten Schlämmen unterscheidet. Die Ausdehnung der Oberfläche dieser amorphen Verbindungen wurde mit über $500 \text{ m}^2/\text{g TS}$ angegeben, wogegen nach Gefriertrocknung diese Oberfläche lediglich noch $19 \text{ m}^2/\text{g TS}$ betrug. [Watson et al. 1995, 2000, 2001].

Die mögliche Bedeutung von rein anorganischen Verbindungen aus Nickel, Eisen und Sulfid, den Elementen, auf denen die Funktionalität der oben genannten Enzyme beruht, wurde in den letzten Jahren hervorgehoben [Edwards 1996, Ganti 1997, Huber und Wächtershäuser 1997, Kalapos 1997, Ruse 1997, Szathmary 1997, Wächtershäuser 1997, Cody et al. 2001, Rickard et al. 2001, Kalapos 2002]. In verschiedenen Veröffentlichungen wurde eine Verbindung aus Pyritgenese und der Entstehung von molekularem Wasserstoff nachgewiesen (Gleichung 4.1) [Drobner et al. 1990, Rickard und Luther III 1997a/b, Butler und Rickard 2000]. Gebildetes H_2 wurde als Energiequelle für frühe Lebensformen vermutet.



Gleichung 4.1

Eisensulfidische Verbindungen in Form des Pyrits wurden darüber hinaus als adsorptiv wirksame Oberfläche eingestuft, an der sich in prebiotischen Systemen durch Komplexbildung einfache Biomoleküle anlagern und in weiterer Reaktion biologisch relevante Bausteine abiotisch synthetisiert werden konnten [Edwards et al. 1998, Bebie und Schoonen 1999].

Es konnte jedoch auch eine unmittelbare katalytische Wirkung von sulfidischen Schlämmen nachgewiesen werden, insofern, dass unter Bedingungen der frühen Erdgeschichte (hohe Temperaturen, reduzierende Atmosphäre) an der Oberfläche ins-

besondere von frisch gefälltem [NiFe]-S-Schlamm aus Kohlenmonoxid und Schwefelwasserstoff CH_3SH und ein Thioester $\text{CH}_3\text{-CO-SCH}_3$ synthetisiert werden konnte, der danach zu Essigsäure hydrolysierte [Huber und Wächtershäuser 1997, Cody et al. 2001]. Dieses Ergebnis sprach für eine katalytische Aktivität der Schlammatrix vergleichbar der der CO-Dehydrogenase unter physiologischen Bedingungen. Die Wirkungsweise der anorganischen Sedimente in den oben genannten Untersuchungen belegt, dass unter extremen Bedingungen chemische Prozesse durch metallsulfidische Verbindungen katalysiert werden können, die qualitativ zur Entstehung derjenigen Produkte führen, die auch durch enzymatische Prozesse freigesetzt werden. Dies deutet darauf hin, dass die komplexe Struktur des Enzyms wohl benötigt wird, um die freie Energie unter physiologischen Bedingungen in der Zelle nutzbar zu machen, jedoch aus mechanistischer Sicht nicht grundsätzlich auszuschließen ist, dass Teilreaktionen der enzymatischen Gesamtreaktion, d.h. die physisorptive Adsorption von H_2 , auch an den Oberflächen von metallsulfidischen Sedimenten ablaufen können.

4.6 Modellierung und Simulation des Prozesses

4.6.1 Ziele der Modellbildung

Mit Modellierung und Simulation des Prozesses werden an dieser Stelle drei Ziele verfolgt, die jeweils mit speziellen Fragen verknüpft sind:

1.) **Beschreibung des kontinuierlichen Prozesses**

Sind die zentralen Prozesse erkannt worden, reichen die vereinfachenden Annahmen für die Modellbildung aus?

2.) **Simulation prozessstabilisierender/ -destabilisierender Einflüsse**

Welches sind die prozessstabilisierenden Einflüsse in beiden Stufen, was führt voraussehbar zur Prozessdestabilisierung (siehe Tabelle 4.1)?

Tabelle 4.1:

Limitierende Einflüsse in R_1 und R_2

| Limitierende Einflüsse | Stufe | |
|--|-------|-------|
| Limitierung der DOC-Freisetzung infolge limitierter Hydrolyse von partikulärem FSG | R_1 | |
| pH-Inhibierung | R_1 | |
| Wasserstoffinhibierung des Substratverbrauchs | R_1 | R_2 |
| Interspecies Hydrogen Transfer zwischen syntrophen und Sulfatreduzierenden Bakterien | R_1 | R_2 |

3.) Ermittlung von Ansätzen zur Prozesssteuerung

Worin liegen die Möglichkeiten zur Prozessregelung/-stabilisierung, wie lässt sich der *Passive Prozess* als *Biotechnologisches Verfahren* gestalten?

4.6.2 Modellbildung und Modellstruktur

Bei der Modellbildung wurden unterschiedliche Studien zur mathematischen Beschreibung anaerober Stoffflüsse berücksichtigt und verschiedene Ansätze integriert [Mosey 1983, Bryers 1985, Costello et al. 1991a/b, Nielsen und Villadsen 1992, Hoh und Cord-Ruwisch 1996, Ruzicka 1996a/b, Kalyuzhnyi et al. 1998, Batstone et al. 2000a,b, Christ et al. 2000, Nagpal et al. 2000].

Es wird ein Prozess angenommen, der im kontinuierlichen Modus mit einer Verdünnungsrate D betrieben wird. Die Gasphase wird kontinuierlich mit N_2 begast. In Abbildung 4.1 sind die im Rahmen der Modellbildung als zentral angenommenen Stoffflüsse graphisch dargestellt.

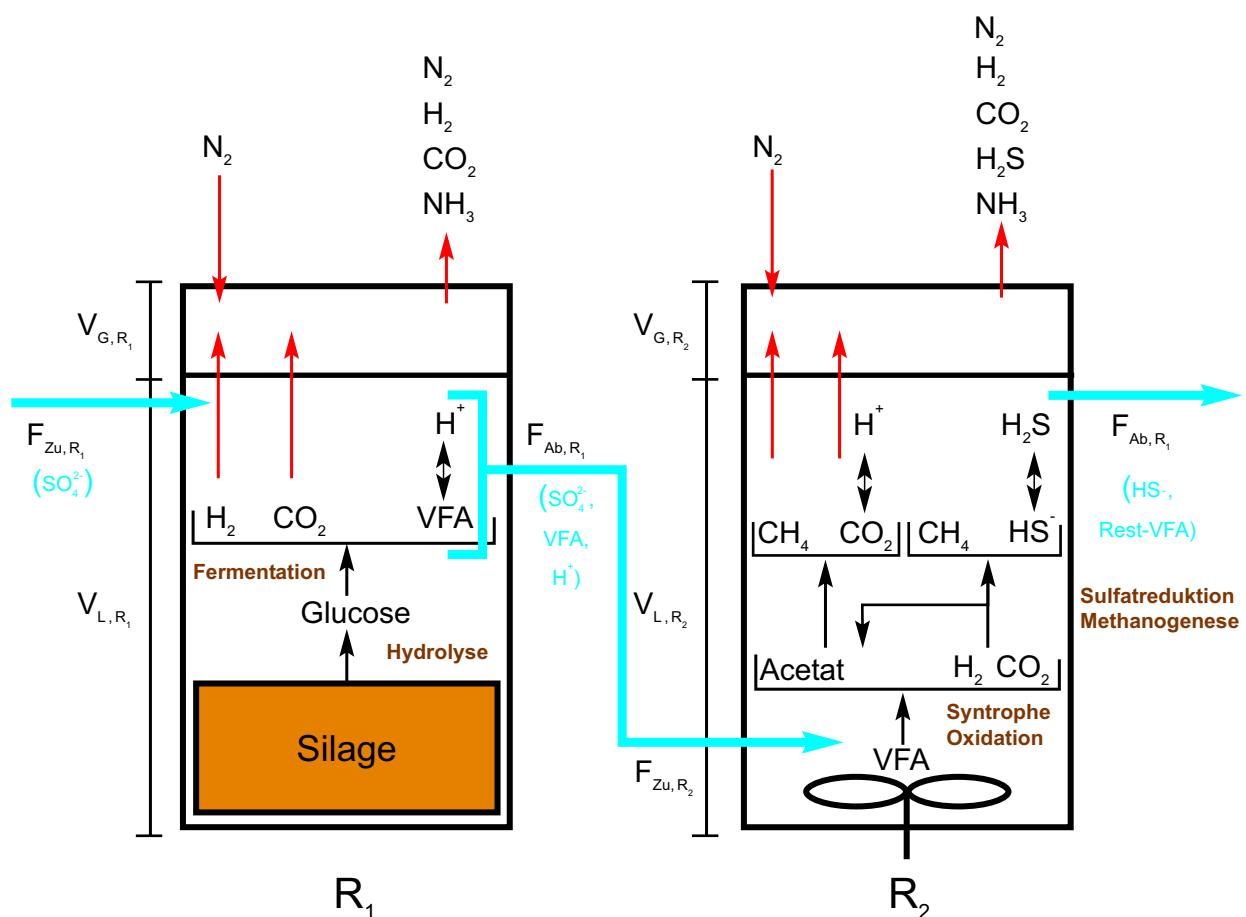


Abbildung 4.1:

Modellstruktur

In R₁ wird ein **Festes Substanzgemisch** (Silage, Si) vorgelegt. Aus der **Silage** (m_{Si}) werden Bestandteile in einer Reaktion 1. Ordnung mit einer Rate $-r_{Hy}$ hydrolytisch freigesetzt und als **Zucker** (Glucose) verfügbar (Gleichung 4.2) .

$$\frac{d(m_{Si})}{dt} = -r_{Hy} \quad \text{Gleichung 4.2}$$

$$r_{Hy} = k_{Hy} \cdot m_{Si} \quad \text{Gleichung 4.3}$$

Gelöste Glucose (c_{Gl}) wird mit einer Rate r_{Gl} von fermentativen Bakterien (X_{Gl}) umgesetzt zu unterschiedlichen organischen Säuren (**VFA**).

$$\frac{d(c_{Gl})}{dt} = \left(\frac{r_{Hy}}{V_L \cdot 72} \right) - r_{Gl} - D \cdot c_{Gl} \quad \text{Gleichung 4.4}$$

Die **Substrataufnahme** sowie die Produktbildung sind reguliert, inhibiert bzw. stabilisiert durch steigenden Wasserstoffpartialdruck und sinkenden pH-Wert. Es wird angenommen, dass Wachstum und Substratverbrauch durch eine **Monod-Kinetik** ($\mu_{max,Gl}$: maximale Wachstumsgeschwindigkeit, $K_{S,Gl}$: Halbsättigungskonstante) ausreichend genau beschrieben werden kann.

$$r_{Gl} = \left(\frac{pH - pH_{UL,Gl}}{pH_{UL,Gl} - pH_{LL,Gl}} \right)^m \cdot \left(\frac{1}{(1 + A)} \right) \cdot \frac{\mu_{max,Gl} \cdot X_{Gl} \cdot c_{Gl}}{K_{S,Gl} + c_{Gl}} \quad \text{Gleichung 4.5}$$

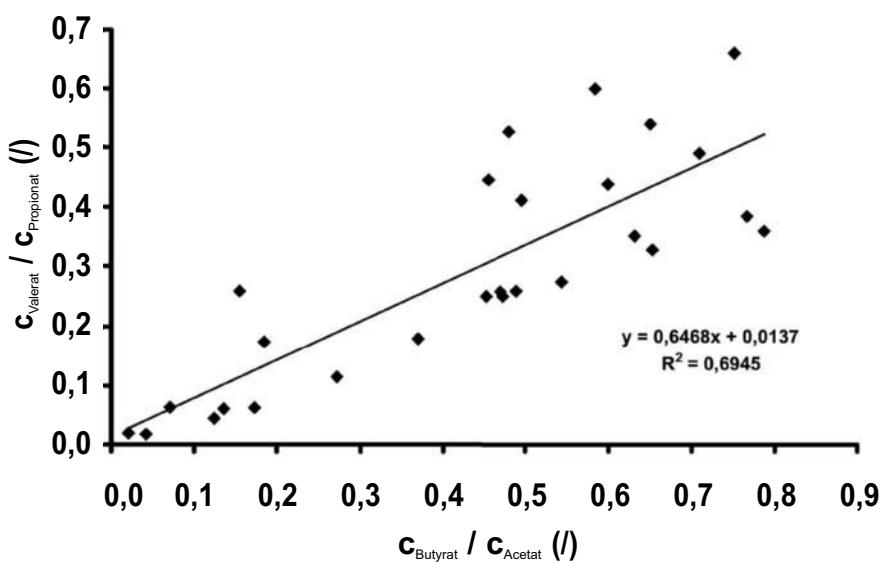
mit $A = 1500 \cdot \rho_{H_2}$

$$\frac{d(X_{Gl})}{dt} = r_{Gl} \cdot Y_{X,Gl} - D \cdot X_{Gl} \quad \text{Gleichung 4.6}$$

Glucose wird entsprechend den Reaktionsgleichungen 4.7 bis 4.11 umgesetzt zu VFA. Berücksichtigt wurden **Acetat**, **Propionat**, **Butyrat**, **Valerat** und **Caproat**. Die Bildungsraten ($r_{i,VFA,R1}$) sind direkt gekoppelt an die Substrataufnahme (r_{Gl}). Die einzelnen Bildungsraten (r_{Ac} , r_{Pr} , r_{Bu} , r_{Va} , r_{Ca}) stehen in Abhängigkeit zum Wasserstoffpartialdruck [Mosey 1983, Costello et al. 1991a/b, Ruzicka 1996a/b]. Diese Annahme konnte in Anlehnung an experimentelle Ergebnisse zunächst als gültig angenommen werden. Unter der Annahme, dass sich das intrazelluläre System zur Bildung von VFA als Funktion der H₂-Konzentration im Gleichgewicht befindet (vgl. Abbildung 4.2¹⁷), können die Bildungsraten der einzelnen VFA als Funktion von Substratverbrauch und Wasserstoffpartialdruck formuliert werden entsprechend den Gleichungen 4.12 bis 4.17 [Ruzicka 1996a/b].

| | |
|---|----------------|
| $\text{Glucose} + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{Acetat} + 2 \text{CO}_2 + 4 \text{H}_2 + 2 \text{H}^+$ | Gleichung 4.7 |
| $\text{Glucose} \rightarrow \text{Butyrat} + 2 \text{CO}_2 + 2 \text{H}_2 + \text{H}^+$ | Gleichung 4.8 |
| $1,5 \text{ Glucose} \rightarrow \text{Caproat} + 3 \text{CO}_2 + 2 \text{H}_2 + 2 \text{H}_2\text{O} + \text{H}^+$ | Gleichung 4.9 |
| $\text{Glucose} + 2 \text{H}_2 \rightarrow 2 \text{Propionat} + 2 \text{H}_2\text{O} + 2 \text{H}^+$ | Gleichung 4.10 |
| $\text{Glucose} + 1 \text{H}_2 \rightarrow \text{Valerat} + 2 \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 + \text{H}^+$ | Gleichung 4.11 |
| $\frac{d(c_{i,VFA,R_1})}{dt} = r_{i,VFA,R_1} - D \cdot c_{i,VFA,R_1}$ | Gleichung 4.12 |
| $r_{Ac} = r_{Gl} \cdot \frac{(1+A-A^2)}{(2+8A+12A^2+6A^3)}$ | Gleichung 4.13 |
| $r_{Pr} = r_{Gl} \cdot \frac{A \cdot (1+A-A^2)}{2}$ | Gleichung 4.14 |
| $r_{Bu} = r_{Gl} \cdot \frac{A \cdot (1+A-A^2)}{(2+10A+20A^2+18A^3+6A^4)}$ | Gleichung 4.15 |
| $r_{Va} = A \cdot r_{Pr}$ | Gleichung 4.16 |
| $r_{Ca} = A \cdot r_{Bu}$ | Gleichung 4.17 |

17

**Abbildung 4.2:**

Abhängigkeit der VFA-Quotienten $c_{\text{Valerat}} / c_{\text{Propionat}}$ und $c_{\text{Butyrat}} / c_{\text{Acetat}}$ in R_1 ,
 $(R_1: 140 \text{ g TS Silage, o. pH-Regelung, RT, } 0,2 \text{ l/min N}_2;$
 $R_2: \text{pH 7 / o. pH-Regelung, } 50 \text{ U/min, } 25^\circ\text{C, } 0,2 \text{ l/min N}_2)$

Die **Wasserstoffkonzentration** c_{H_2} ist gekoppelt an den mikrobiellen Stoffwechsel (Gleichungen 4.18 bis 4.20). Es wird angenommen, dass in R_1 lediglich hydrogenogene Reaktionen (Fermentation) stattfinden und hydrogenotrophe Reaktionen infolge der hohen Protonenkonzentration (c_{H^+}) weitgehend limitiert sind. Gelöster Wasserstoff wird in beiden Stufen R_1 und R_2 durch die Begasung des Gasphase kontinuierlich gestripppt. In R_2 wird Wasserstoff durch syntrophe Reaktionen mit einer Rate $r_{i,VFA}$ gebildet und durch hydrogenotrophe Reaktionen (Sulfatreduktion: r_{H_2,SO_4} , Methanogenese: r_{H_2,CH_4}) verbraucht.

$$\frac{d(c_{H_2})}{dt} = r_{H_2} - r_{H_2,g} \quad \text{Gleichung 4.18}$$

$$R_1 : r_{H_2} = (r_{Ac} \cdot 2) + (r_{Pr} \cdot (-1)) + (r_{Bu} \cdot 2) + (r_{Ca} \cdot 1,33) + (r_{Va} \cdot (-1)) \quad \text{Gleichung 4.19}$$

$$R_2 : r_{H_2} = (r_{Pr} \cdot 3) + (r_{Bu} \cdot 2) + (r_{Va} \cdot 5) + (r_{Ca} \cdot 4) - r_{H_2,SO_4} - r_{H_2,CH_4} \quad \text{Gleichung 4.20}$$

Die Konzentration an **gelöstem anorganischem Kohlenstoff** (c_{IC}) ist in beiden Stufen an den mikrobiellen Stoffwechsel gekoppelt (Gleichungen 4.21 bis 4.23). Analog H_2 wird gelöstes CO_2 (c_{CO_2}) in beiden Stufen R_1 und R_2 durch die Begasung des Gasraumes kontinuierlich gestripppt.

$$\frac{d(c_{IC})}{dt} = r_{IC} - D \cdot c_{IC} - r_{CO_2,g} \quad \text{Gleichung 4.21}$$

$$R_1 : r_{IC} = (r_{Ac} \cdot 1) + (r_{Bu} \cdot 2) \quad \text{Gleichung 4.22}$$

$$R_2 : r_{IC} = (r_{Pr} \cdot 1) + (r_{Va} \cdot 1) \quad \text{Gleichung 4.23}$$

$$c_{CO_2} = c_{IC} - c_{HCO_3^-} \quad \text{Gleichung 4.24}$$

Die **Protonenkonzentration** (c_{H^+}) bzw. der pH-Wert wird unter Berücksichtigung der verschiedenen Puffersysteme aus der Gleichgewichtsbedingung nach Gleichung 4.25 berechnet.

$$c_{H^+} = c_{HCO_3^-} + c_{HS} + c_{HPO_4^{2-}} + c_{i,VFA^-} + \frac{K_w}{c_{H^+}} - c_{NH_4^+} \quad \text{Gleichung 4.25}$$

$$c_{HCO_3^-} = \frac{k_{D,CO_2} \cdot c_{IC}}{k_{D,CO_2} + c_{H^+}} \quad \text{Gleichung 4.26}$$

$$c_{i,VFA^-} = \frac{k_{D,i,VFA} \cdot c_{i,VFA}}{k_{D,i,VFA} + c_{H^+}} \quad \text{Gleichung 4.27}$$

$$c_{HS} = \frac{k_{D,H_2S} \cdot c_S}{k_{D,H_2S} + c_{H^+}} \quad \text{Gleichung 4.28}$$

$$c_{HPO_4} = \frac{k_{D,H_2PO_4} \cdot c_{PO_4}}{k_{D,H_2PO_4} + c_{H^+}} \quad \text{Gleichung 4.29}$$

$$c_{NH_4} = \frac{k_{D,NH_3} \cdot c_N}{k_{D,NH_3} + \frac{K_w}{c_{H^+}}} \quad \text{Gleichung 4.30}$$

Der **Übergang der gelösten Gase** über die Phasengrenzfläche, d.h. die Stripping der Gase in den beiden Stufen R_1 und R_2 , wird mittels des volumenbezogenen Stoffdurchgangskoeffizienten ($k_L a$) als Funktion des jeweiligen Partialdruckes (ρ_{H_2} , ρ_{CO_2} , ρ_{H_2S}) und der Löslichkeit des jeweiligen Gases, ausgedrückt durch den Henry-Koeffizienten (He_{H_2} , He_{CO_2} , He_{H_2S}), berechnet (Gleichungen 4.31 - 4.36).

$$r_{H_2,g} = k_L a \cdot \left(c_{H_2} - \frac{\rho_{H_2}}{He_{H_2}} \right) \quad \text{Gleichung 4.31}$$

$$\frac{d(\rho_{H_2})}{dt} = - \left(\rho_{H_2} \cdot \frac{\rho_{N_2} \cdot F_G}{(\rho_{N_2} - \rho_{H_2} - \rho_{CO_2} - \rho_{H_2S}) \cdot V_G} + \frac{r_{H_2,g} \cdot R \cdot T \cdot V_L}{V_G} \right) \quad \text{Gleichung 4.32}$$

$$r_{CO_2,g} = k_L a \cdot \left(c_{CO_2} - \frac{\rho_{CO_2}}{He_{CO_2}} \right) \quad \text{Gleichung 4.33}$$

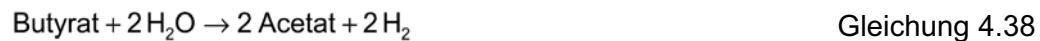
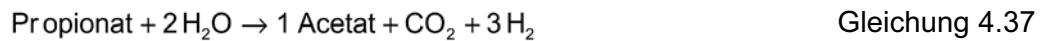
$$\frac{d(\rho_{CO_2})}{dt} = - \left(\rho_{CO_2} \cdot \frac{\rho_{N_2} \cdot F_G}{(\rho_{N_2} - \rho_{H_2} - \rho_{CO_2} - \rho_{H_2S}) \cdot V_G} + \frac{r_{CO_2,g} \cdot R \cdot T \cdot V_L}{V_G} \right) \quad \text{Gleichung 4.34}$$

$$r_{H_2S,g} = k_L a \cdot \left(c_{H_2S} - \frac{\rho_{H_2S}}{He_{H_2S}} \right) \quad \text{Gleichung 4.35}$$

$$\frac{d(\rho_{H_2S})}{dt} = - \left(\rho_{H_2S} \cdot \frac{\rho_{N_2} \cdot F_G}{(\rho_{N_2} - \rho_{H_2} - \rho_{CO_2} - \rho_{H_2S}) \cdot V_G} + \frac{r_{H_2S,g} \cdot R \cdot T \cdot V_L}{V_G} \right) \quad \text{Gleichung 4.36}$$

Als Kohlenstoff- und Energiequelle im Zulauf von R_2 werden lediglich VFA ($c_{i,VFA, R2}$) bereitgestellt. **Syntrophe Bakterien** X_{syn} setzen zunächst VFA mit einer Rate $r_{i,VFA}$ zu Wasserstoff und Acetat um, dabei wird die Reaktion wiederum beeinflusst durch den Wasserstoffpartialdruck. Diese Abhängigkeit wurde durch eine Modifizierung der Monod-Kinetik mit der Einfügung eines Inhibierungsterms berücksichtigt [Hoh und Cord-Ruwisch 1996, 1997]. Es wurde dabei angenommen, dass die mikrobiellen

Stoffumsätze nur möglich sind, wenn ein minimales Quantum an freier Energie konserviert werden kann. Dies bedeutet, dass $\Delta G' \leq -20 \text{ kJ/mol}$ sein muss (Schink 2002). Die bei der Modellierung berücksichtigten Reaktionen verlaufen entsprechend den Reaktionsgleichungen 4.37 bis 4.40.



$$\frac{dc_{i,VFA,R2}}{dt} = D \cdot c_{i,VFA,R1} - r_{i,VFA} - D \cdot c_{i,VFA,R2} \quad \text{Gleichung 4.41}$$

$$r_{i,VFA,R2} = \left(\frac{pH - pH_{LL,Sy}}{pH_{UL,Sy} - pH_{LL,Sy}} \right)^m \cdot \frac{\mu_{max,i,VFA} \cdot X_{Syn} \cdot c_{i,VFA,R2} \cdot \left(1 - \frac{\Gamma}{K_{\Delta G,VFA,i}} \right)}{K_{S,i,VFA} + c_{i,VFA,R2} \cdot \left(1 + \frac{\Gamma}{K_{\Delta G,VFA,i}} \right)} \quad \text{Gleichung 4.42}$$

$$\Gamma = \frac{c_p}{c_s}$$

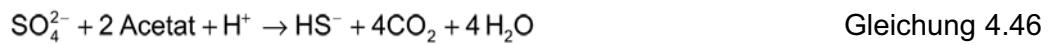
$$\frac{d(X_{Sy})}{dt} = (r_{Ca,R2} \cdot Y_{X,Ca}) + (r_{Va,R2} \cdot Y_{X,VA}) + (r_{Bu,R2} \cdot Y_{X,Bu}) + (r_{Pr,R2} \cdot Y_{X,Pr}) - D \cdot X_{Sy}$$

Gleichung 4.43

Acetat ($c_{Ac,R2}$) wird durch die syntrophen Reaktionen (Gleichung 4.44) gebildet und kann durch **acetotrophe Sulfatreduktion** und **acetoklastische Methanogenese** entsprechend den Gleichungen 4.46 und 4.49 mit den Raten r_{Ac,SO_4} und r_{Ac,CH_4} verbraucht werden.

$$\frac{dc_{Ac,R2}}{dt} = D \cdot c_{Ac,R1} + r_{Ac,Sy} - r_{Ac,SO_4} - r_{Ac,CH_4} - D \cdot c_{Ac,R2} \quad \text{Gleichung 4.44}$$

$$r_{Ac,Sy} = (r_{Pr,R2} \cdot 1) + (r_{Bu,R2} \cdot 2) + (r_{Va,R2} \cdot 2) + (r_{Ca,R2} \cdot 3) \quad \text{Gleichung 4.45}$$



$$r_{\text{Ac},\text{SO}_4} = \left(\frac{\text{pH} - \text{pH}_{\text{UL},\text{SO}_4}}{\text{pH}_{\text{UL},\text{SO}_4} - \text{pH}_{\text{LL},\text{SO}_4}} \right)^m \cdot \frac{\mu_{\text{max},\text{SO}_4,\text{Ac}} \cdot X_{\text{SO}_4,\text{Ac}} \cdot c_{\text{Ac},\text{R2}}}{(K_{\text{S},\text{SO}_4,\text{Ac}} + c_{\text{Ac},\text{R2}})} \quad \text{Gleichung 4.47}$$

$$\frac{d(X_{\text{SO}_4,\text{Ac}})}{dt} = r_{\text{Ac},\text{SO}_4} \cdot Y_{\text{X},\text{SO}_4,\text{Ac}} - D \cdot X_{\text{SO}_4,\text{Ac}} \quad \text{Gleichung 4.48}$$



$$r_{\text{Ac},\text{CH}_4} = \left(\frac{\text{pH} - \text{pH}_{\text{LL},\text{CH}_4}}{\text{pH}_{\text{UL},\text{CH}_4} - \text{pH}_{\text{LL},\text{CH}_4}} \right)^m \cdot \frac{\mu_{\text{max},\text{CH}_4,\text{Ac}} \cdot X_{\text{CH}_4,\text{Ac}} \cdot c_{\text{Ac},\text{R2}}}{(K_{\text{S},\text{CH}_4,\text{Ac}} + c_{\text{Ac},\text{R2}})} \quad \text{Gleichung 4.50}$$

$$\frac{d(X_{\text{CH}_4,\text{Ac}})}{dt} = r_{\text{Ac},\text{CH}_4} \cdot Y_{\text{X},\text{CH}_4,\text{Ac}} - D \cdot X_{\text{CH}_4,\text{Ac}} \quad \text{Gleichung 4.51}$$

Wasserstoff ($c_{\text{H}_2,\text{R2}}$) wird infolge von **Interspecies Hydrogen Transfer** potenziell für hydrogenotrophe Reaktionen, d.h., hier berücksichtigt, **Sulfatreduktion** (Gleichung 4.52) und **Methanogenese** (Gleichung 4.58) verbraucht. Die Reaktionen werden ebenfalls beeinflusst durch den Wasserstoffpartialdruck, so dass wieder eine Modifizierung der Monod-Kinetik mit der Einfügung eines Inhibierungsterms vorgenommen wurde. Der **Sulfatverbrauch** ergibt sich aus Gleichung 4.54.



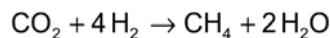
$$r_{\text{H}_2,\text{SO}_4} = \left(\frac{\text{pH} - \text{pH}_{\text{LL},\text{SO}_4}}{\text{pH}_{\text{UL},\text{SO}_4} - \text{pH}_{\text{LL},\text{SO}_4}} \right)^m \cdot \frac{\mu_{\text{max},\text{SO}_4,\text{H}_2} \cdot X_{\text{SO}_4,\text{H}_2} \cdot c_{\text{H}_2,\text{R2}} \cdot \left(1 - \frac{\Gamma}{K_{\Delta G,\text{SO}_4}} \right)}{\left(K_{\text{S},\text{SO}_4,\text{H}_2} + c_{\text{H}_2,\text{R2}} \cdot \left(1 + \frac{\Gamma}{K_{\Delta G,\text{SO}_4}} \right) \right)} \quad \text{Gleichung 4.53}$$

$$\frac{d(c_{\text{SO}_4,\text{R2}})}{dt} = D \cdot c_{\text{SO}_4,\text{R1}} - \frac{r_{\text{H}_2,\text{SO}_4}}{4} - \frac{r_{\text{Ac},\text{SO}_4}}{2} - D \cdot c_{\text{SO}_4,\text{R2}} \quad \text{Gleichung 4.54}$$

$$\frac{d(X_{\text{SO}_4,\text{H}_2})}{dt} = r_{\text{H}_2,\text{SO}_4} \cdot Y_{\text{X},\text{SO}_4} - D \cdot X_{\text{SO}_4,\text{H}_2} \quad \text{Gleichung 4.55}$$

$$\frac{d(c_{\text{S}})}{dt} = \frac{r_{\text{H}_2,\text{SO}_4}}{4} + \frac{r_{\text{Ac},\text{SO}_4}}{2} - r_{\text{H}_2\text{S},\text{g}} \quad \text{Gleichung 4.56}$$

$$c_{\text{H}_2\text{S}} = c_{\text{S}} - c_{\text{HS}} \quad \text{Gleichung 4.57}$$



Gleichung 4.58

$$r_{\text{H}_2, \text{CH}_4} = \left(\frac{\text{pH} - \text{pH}_{\text{LL,CH}_4}}{\text{pH}_{\text{UL,CH}_4} - \text{pH}_{\text{LL,CH}_4}} \right)^m \cdot \frac{\mu_{\text{max,CH}_4, \text{H}_2} \cdot X_{\text{CH}_4, \text{H}_2} \cdot c_{\text{H}_2, \text{R2}} \cdot \left(1 - \frac{\Gamma}{K_{\Delta G, \text{CH}_4}} \right)}{\left(K_{\text{S,CH}_4, \text{H}_2} + c_{\text{H}_2, \text{R2}} \cdot \left(1 + \frac{\Gamma}{K_{\Delta G, \text{CH}_4}} \right) \right)}$$

Gleichung 4.59

$$\frac{d(X_{\text{CH}_4, \text{H}_2})}{dt} = r_{\text{H}_2, \text{CH}_4} \cdot Y_{\text{X,CH}_4, \text{H}_2} - D \cdot X_{\text{CH}_4, \text{H}_2}$$

Gleichung 4.60

Es wurden bei der Modellierung einige Vereinfachungen angenommen, von denen folgende genannt werden müssen:

- 1.) Alle direkt eluierbaren Verbindungen (z.B. Lactat) wurden nicht berücksichtigt.
- 2.) Die Modellierung beschränkt sich auf ein Molekül (Glucose), Aminosäuren wurden vernachlässigt.
- 3.) Biomasse wurde vereinheitlicht.
- 4.) Sulfatreduktion unter direktem Verbrauch von VFA wurde vernachlässigt.
- 5.) Homoacetogenese als Konkurrenzreaktion zu hydrogenotropher Sulfatreduktion und Methanogenese wurde vernachlässigt [Wu et al. 2001].
- 6.) Metallfällung (hydroxidisch / sulfidisch) wurde durch das Modell nicht beschrieben.

Tabelle 4.2:

Abkürzungen und Formelzeichen („/“ bedeutet keine Angabe oder variabler Wert)

| Zeichen | Bedeutung | Wert | Einheit | Quelle |
|--------------------|---|------|---------|--------------|
| A | NADH / NAD | / | / | [Mosey 1983] |
| c _{Ac} | Konzentration Acetat | / | mM | / |
| c _{Bu} | Konzentration Butyrat | / | mM | / |
| c _{Ca} | Konzentration Caproat | / | mM | / |
| c _{CO2} | Konzentration gelöstes Kohlendioxid | / | mM | / |
| c _{Gl} | Konzentration Glucose | / | mM | / |
| c _{H+} | Konzentration Protonen | / | M | / |
| c _{H2} | Konzentration Wasserstoff | / | mM | / |
| c _{H2S} | Konz. gelöster Schwefelwasserstoff | / | mM | / |
| c _{HCO3} | Konzentration Hydrogencarbonat | / | mM | / |
| c _{HPO4} | Konzentration Phosphat diss. | / | mM | / |
| c _{HS} | Konzentration HS ⁻ | / | mM | / |
| c _s | Konzentration Sulfid gesamt | / | mM | / |
| c _{i,VFA} | Konz. Fettsäuren (i=Ac, Pr, Bu, Va, Ca) | / | mM | / |

Tabelle 4.2 (Fortsetzung):

Abkürzungen und Formelzeichen („/“ bedeutet keine Angabe oder variabler Wert)

| Zeichen | Bedeutung | Wert | Einheit | Quelle |
|----------------|---|-----------------------|-----------------------|--------------------------|
| $c_{i,VFA}$ | Konzentration dissozierte Fettsäuren | / | mM | / |
| c_{IC} | Konz. anorganischer Kohlenstoff | / | mM | / |
| c_{NH3} | Konzentration Ammonium gesamt | / | mM | / |
| c_{NH4} | Konzentration Ammonium diss. | / | mM | / |
| c_p | Konzentration Produkte | / | / | / |
| c_{PO4} | Konzentration Phosphat gesamt | / | mM | / |
| c_{Pr} | Konzentration Propionat | / | mM | / |
| c_s | Konzentration Substrate | / | mM | / |
| c_{SO4} | Konzentration Sulfat | / | mM | / |
| c_{Va} | Konzentration Valerat | / | mM | / |
| D | Verdünnungsrate | F / V | h^{-1} | / |
| F_{Ab} | Volumenstrom Ablauf | / | $l * h^{-1}$ | / |
| F_G | Volumenstrom Gas | / | $l * h^{-1}$ | / |
| F_{zu} | Volumenstrom Zulauf | / | $l * h^{-1}$ | / |
| He_{CO2} | Henry-Konstante Kohlendioxid | $2,588 \cdot 10^2$ | $atm * l * mMol^{-1}$ | [Nagpal et al. 2000] |
| He_{H2} | Henry-Konstante Wasserstoff | 1,282 | $atm * l * mMol^{-1}$ | [Sander 1999] |
| He_{H2S} | Henry-Konstante Schwefelwasserstoff | $1,07 \cdot 10^2$ | $atm * l * mMol^{-1}$ | [Nagpal et al. 2000] |
| He_{NH3} | Henry-Konstante Ammonium | $2,0 \cdot 10^{-5}$ | $atm * l * mMol^{-1}$ | [Sander 1999] |
| $k_{D,Ac}$ | Dissoziationskonstante Essigsäure | $1,74 \cdot 10^{-5}$ | / | [Lide 1996] |
| $k_{D,Bu}$ | Dissoziationskonstante Buttersäure | $4,57 \cdot 10^{-5}$ | / | [Lide 1996] |
| $k_{D,Ca}$ | Dissoziationskonstante Hexansäure | $1,4 \cdot 10^{-5}$ | / | [Lide 1996] |
| $k_{D,CO2}$ | Dissoziationskonstante Kohlendioxid | $4,0 \cdot 10^{-7}$ | / | [Lide 1996] |
| $k_{D,H2S}$ | Diss.-konstante Schwefelwasserstoff | $1,075 \cdot 10^{-7}$ | / | [Lide 1996] |
| $k_{D,i,VFA}$ | Dissoziationskonstante VFA | / | / | / |
| $k_{D,NH3}$ | Dissoziationskonstante Ammonium | $1,8 \cdot 10^{-5}$ | / | [Lide 1996] |
| $k_{D,Pr}$ | Dissoziationskonstante Propionsäure | $1,38 \cdot 10^{-5}$ | / | [Lide 1996] |
| $k_{D,Va}$ | Dissoziationskonstante Valeriansäure | $1,45 \cdot 10^{-5}$ | / | [Lide 1996] |
| k_{Hy} | Konstante Hydrolyse | 0,00125 | $mg TOC * h^{-1}$ | / |
| k_a | Volumenbez. Stoffübergangskoeffizient | 10,0 | h^{-1} | [Nagpal et al. 2000] |
| $K_{S,GI}$ | Halbsättigunskonstante Fermentation | 0,128 | mM | [Costello et al. 1991] |
| $K_{S,i,VFA}$ | Halbsättigunskonst. Syntrophe Oxidation (VFA) | / | mM | / |
| $K_{S,SO4,H2}$ | Halbsättigunskonst. Sulfatreduktion (H_2) | 0,004375 | mM | [Kalyuzhnyi et al. 1998] |
| $K_{S,SO4,Ac}$ | Halbsättigunskonst. Sulfatred. (Acetat) | 0,39 | mM | [Kalyuzhnyi et al. 1998] |
| $K_{S,SO4}$ | Halbsättigunskonst. Sulfated (Sulfat) | 0,344 | mM | [Omil et al. 1998] |
| $K_{S,Bu}$ | Halbsättigunskonst. Syntrophe Oxidation (Butyrat) | 1,75 | mM | [Batstone et al. 2000] |
| $K_{S,Ca}$ | Halbsättigunskonst. Syntrophe Oxidation (Caproat) | 0,835 | mM | [Batstone et al. 2000] |

Tabelle 4.2 (Fortsetzung):

Abkürzungen und Formelzeichen („/“ bedeutet keine Angabe oder variabler Wert)

| Zeichen | Bedeutung | Wert | Einheit | Quelle |
|----------------------|---|---|---|--------------------------|
| $K_{s,Pr}$ | Halbsättigungsconst. Syntrophe Oxidation (Propionat) | 3,33 | mM | [Batstone et al. 2000] |
| $K_{s,Va}$ | Halbsättigungsconstante Syntrophe Oxidation (Valerat) | 1,00 | mM | [Batstone et al. 2000] |
| $K_{s,CH4,Ac}$ | Halbsättigungsconst. Methanogenese (Acetat) | 1,48 | mM | [Kalyuzhnyi et al. 1998] |
| $K_{s,CH4,H2}$ | Halbsättigungsconst. Methanogenese (H_2) | 0,0075 | mM | [Kalyuzhnyi et al. 1998] |
| K_w | Dissoziationskonstante Wasser | $1,0 \cdot 10^{-14}$ | / | / |
| $K_{\Delta G,i,VFA}$ | Inhibierungskonst. VFA-Abbau | $1,1737 \cdot 10^{-12} - 4,2567 \cdot 10^{-26}$ | / | / |
| $K_{\Delta G,SO4}$ | Inhibierungskonst. Sulfatreduktion | $1,2847 \cdot 10^{23}$ | / | / |
| m | Wichtungsfaktor pH-Inhibierung | / | / | / |
| m_{Si} | Masse TOC Silage | / | mg | / |
| $pH_{LL,GI}$ | Unteres pH-Limit Fermentation | / | / | / |
| $pH_{LL,SO4}$ | Unteres pH-Limit Sulfatreduktion | / | / | / |
| $pH_{LL,Sy}$ | Unteres pH-Limit Syntrophe Oxidation | / | / | / |
| $pH_{UL,GI}$ | Oberes pH-Limit Fermentation | / | / | / |
| $pH_{UL,SO4}$ | Oberes pH-Limit Sulfatreduktion | / | / | / |
| $pH_{UL,Sy}$ | Oberes pH-Limit Syntrophe Oxidation | / | / | / |
| R | Gaskonstante | $8,20578 \cdot 10^2$ | $l \cdot atm \cdot K^{-1} \cdot Mol^{-1}$ | / |
| r_{Ac} | Rate Acetatumsumsatz | / | mM $\cdot h^{-1}$ | / |
| $r_{Ac,CH4}$ | Rate Acetatverbrauch Methanogenese | / | mM $\cdot h^{-1}$ | / |
| $r_{Ac,SO4}$ | Rate Acetatverbrauch Sulfatreduktion | / | mM $\cdot h^{-1}$ | / |
| $r_{Ac,Sy}$ | Rate Acetatabbildung Syntrophe | / | mM $\cdot h^{-1}$ | / |
| r_{Bu} | Rate Butyratumsatz | / | mM $\cdot h^{-1}$ | / |
| r_{Ca} | Rate Caproatumsatz | / | mM $\cdot h^{-1}$ | / |
| $r_{CO2,g}$ | CO ₂ -Transfer Flüssig-Gas-Phase | / | mM $\cdot h^{-1}$ | / |
| r_{Gl} | Rate Glucoseverbrauch | / | mM $\cdot h^{-1}$ | / |
| r_{H2} | Rate H_2 -Umsatz | / | mM $\cdot h^{-1}$ | / |
| $r_{H2,CH4}$ | Rate Wasserstoffverbrauch Methanogenese | / | mM $\cdot h^{-1}$ | / |
| $r_{H2,g}$ | Wasserstofftransfer Flüssig-Gas-Phase | / | mM $\cdot h^{-1}$ | / |
| $r_{H2,SO4}$ | Rate Wasserstoffverbrauch Sulfatred. | / | mM $\cdot h^{-1}$ | / |
| $r_{H2S,g}$ | H_2S -Transfer Flüssig-Gas-Phase | / | mM $\cdot h^{-1}$ | / |
| r_{Hy} | Rate Hydrolyse | / | mg TOC $\cdot l^{-1} \cdot h^{-1}$ | / |
| $r_{i,VFA}$ | Rate(n) Fettsäureumsatz | / | mM $\cdot h^{-1}$ | / |
| r_{IC} | Rate Bildung anorganischer Kohlenstoff | / | mM $\cdot h^{-1}$ | / |
| r_{Pr} | Rate Propionatbildung | / | mM $\cdot h^{-1}$ | / |
| r_{SO4} | Rate Sulfatreduktion | / | mM h^{-1} | / |
| r_{Va} | Rate Valeratbildung | / | mM $\cdot h^{-1}$ | / |
| T | Temperatur | / | K | / |

Tabelle 4.2 (Fortsetzung):

Abkürzungen und Formelzeichen („/“ bedeutet keine Angabe oder variabler Wert)

| Zeichen | Bedeutung | Wert | Einheit | Quelle |
|---------------------------|---|-----------------------|---|----------------------------|
| V_g | Volumen Gasphase | 0,5 | / | / |
| V_l | Volumen Flüssigphase | $R_1: 1,7 / R_2: 1,0$ | / | / |
| X_{gi} | Biomasse Fermentation | / | mg VSS * l ⁻¹ | / |
| $X_{CH4,Ac}$ | Biomasse Methanogenese (Acetat) | / | mg VSS * l ⁻¹ | / |
| $X_{CH4,H2}$ | Biomasse Methanogenese (H ₂) | / | mg VSS * l ⁻¹ | / |
| $X_{SO4,Ac}$ | Biomasse Sulfatreduktion (Acetat) | / | mg VSS * l ⁻¹ | / |
| $X_{SO4,H2}$ | Biomasse Sulfatreduktion (H ₂) | / | mg VSS * l ⁻¹ | / |
| X_{syn} | Biomasse Syntrophe Oxidierer | / | mg VSS * l ⁻¹ | / |
| $Y_{x,gi}$ | Ausbeutekoeffizient Fermentation | 30,0 | mg VSS * mMol ⁻¹ | [Mosey 1983, Ruzicka 1996] |
| $Y_{x,SO4,H2}$ | Ausbeutekoeffizient Sulfatreduktion (H ₂) | 0,80 | mg VSS * mMol ⁻¹ | [Kalyuzhnyi et al. 1998] |
| $Y_{x,SO4,Ac}$ | Ausbeutekoeffizient Sulfatred. (Acetat) | 2,31 | mg VSS * mMol ⁻¹ | [Kalyuzhnyi et al. 1998] |
| $Y_{x,Bu}$ | Ausbeutekoeffizient Syntrophe Oxidation (Butyrat) | 6,509 | mg VSS * mMol ⁻¹ | [Batstone et al. 2000] |
| $Y_{x,Ca}$ | Ausbeutekoeffizient Syntrophe Oxidation (Caproat) | 9,744 | mg VSS * mMol ⁻¹ | [Batstone et al. 2000] |
| $Y_{x,Pr}$ | Ausbeutekoeffizient Syntrophe Oxidation (Propionat) | 4,344 | mg VSS * mMol ⁻¹ | [Batstone et al. 2000] |
| $Y_{x,Va}$ | Ausbeutekoeffizient Syntrophe Oxidation (Valerat) | 8,136 | mg VSS * mMol ⁻¹ | [Batstone et al. 2000] |
| $Y_{x,CH4,Ac}$ | Ausbeutekoeffizient Methanogenese (Acetat) | 2,31 | mg VSS * mMol ⁻¹ | [Kalyuzhnyi et al. 1998] |
| $Y_{x,CH4,H2}$ | Ausbeutekoeffizient Methanogenese (H ₂) | 0,24 | mg VSS * mMol ⁻¹ | [Kalyuzhnyi et al. 1998] |
| $\mu_{max,Bu}$ | Max. Substrataufnahmehgeschwindigkeit Syntrophe Oxidation (Butyrat) | 0,044 | mMol * mg VSS ⁻¹ h ⁻¹ | [Batstone et al. 2000] |
| $\mu_{max,Ca}$ | Max. Substrataufnahmehgeschwindigkeit Syntrophe Oxidation (Caproat) | 0,0296 | mMol * mg VSS ⁻¹ h ⁻¹ | [Batstone et al. 2000] |
| $\mu_{max,Gl}$ | Max. Substrataufnahmehgeschwindigkeit Fermentation | 0,0625 | mMol * mg VSS ⁻¹ h ⁻¹ | [Costello et al. 1991] |
| $\mu_{max,i,VFA}$ | Max. Substrataufnahmehgeschwindigkeit Syntrophe Oxidation (VFA) | / | mMol * mg VSS ⁻¹ h ⁻¹ | / |
| $\mu_{max,Pr}$ | Max. Substrataufnahmehgeschwindigkeit Syntrophe Oxidation (Propionat) | 0,0077 | mMol * mg VSS ⁻¹ h ⁻¹ | [Batstone et al. 2000] |
| $\mu_{max,Va}$ | Max. Substrataufnahmehgeschwindigkeit Syntrophe Oxidation (Valerat) | 0,0168 | mMol * mg VSS ⁻¹ h ⁻¹ | [Batstone et al. 2000] |
| $\mu_{max,SO4,H2}$ | Max. Substrataufnahmehgeschwindigkeit Sulfatreduktion (H ₂) | 0,007 | mMol * mg VSS ⁻¹ h ⁻¹ | [Kalyuzhnyi et al. 1998] |
| $\mu_{max,SO4,Ac}$ | Max. Substrataufnahmehgeschwindigkeit Sulfatreduktion (Acetat) | $1,0 \cdot 10^{-4}$ | mMol * mg VSS ⁻¹ h ⁻¹ | [Kalyuzhnyi et al. 1998] |
| $\mu_{max,CH4,H2}$ | Max. Substrataufnahmehgeschwindigkeit Methanogenese (H ₂) | 0,003 | mMol * mg VSS ⁻¹ h ⁻¹ | [Kalyuzhnyi et al. 1998] |
| $\mu_{max,CH4,Ac}$ | Max. Substrataufnahmehgeschwindigkeit Methanogenese (Acetat) | $1,3 \cdot 10^{-4}$ | mMol * mg VSS ⁻¹ h ⁻¹ | [Kalyuzhnyi et al. 1998] |
| pCH_4 | Partialdruck Methan | / | atm | / |
| pCO_2 | Partialdruck Kohlendioxid | / | atm | / |
| pH_2 | Partialdruck Wasserstoff | / | atm | / |
| pH_2S | Partialdruck Schwefelwasserstoff | / | atm | / |
| pN_2 | Partialdruck Stickstoff | / | atm | / |
| <i>Allgemeine Indizes</i> | | | | |
| R_1 | Reaktor R ₁ | / | / | / |
| R_2 | Reaktor R ₂ | / | / | / |
| i | VFA (Ac, Pr, Bu, Va, Ca) | / | / | / |

4.6.3 Simulation

Die Simulation wurde zunächst unter Verwendung von Daten aus verschiedenen anderen Studien (siehe Tabelle 4.2) durchgeführt. Die berechneten Prozessverläufe wurden im Anschluss durch die Anpassung einzelner Parameter den tatsächlichen Messwerten angenähert und so die Tauglichkeit des Modellansatzes geprüft.

Durch die Anpassung der Hydrolyse-Konstante auf $0,00213 \text{ mgTOC} \cdot \text{h}^{-1}$ konnte die DOC-Konzentration in R_1 ausreichend gut simuliert werden (siehe Abbildung 4.3). Der ermittelte Wert liegt im Bereich bekannter Konstanten für die Hydrolyse von Kohlenwasserstoffen [Christ et al. 2000].

Der pH-Wert, der in R_1 nicht geregelt wurde, stellte sich unter Beteiligung verschiedener Puffersysteme (vgl. Gleichungen 4.25 bis 4.30) ein. Eine Simulation des gemessenen pH-Verlaufes wurde durch Anpassung der Ammoniumkonzentration in R_1 vorgenommen. Ammonium wurde in den Versuchen nicht messtechnisch erfasst, so dass die Gültigkeit der Annahme nicht überprüft werden konnte. Die berechnete Ammoniumkonzentration in R_1 lag mit $4,207 \text{ mM}$ deutlich unterhalb der tatsächlichen Zulaufkonzentration.

Die Bildung organischer Säuren als Summe der einzelnen VFA (Acetat, Propionat, Butyrat, Valerat und Caproat) wurde durch das Modell gut beschrieben (Abbildung 4.4). Deutliche Abweichungen von den gemessenen Werten der einzelnen VFA gab es jedoch bei der Modellierung der einzelnen VFA-Konzentrationsverläufe als Funktion der H_2 -Konzentration.

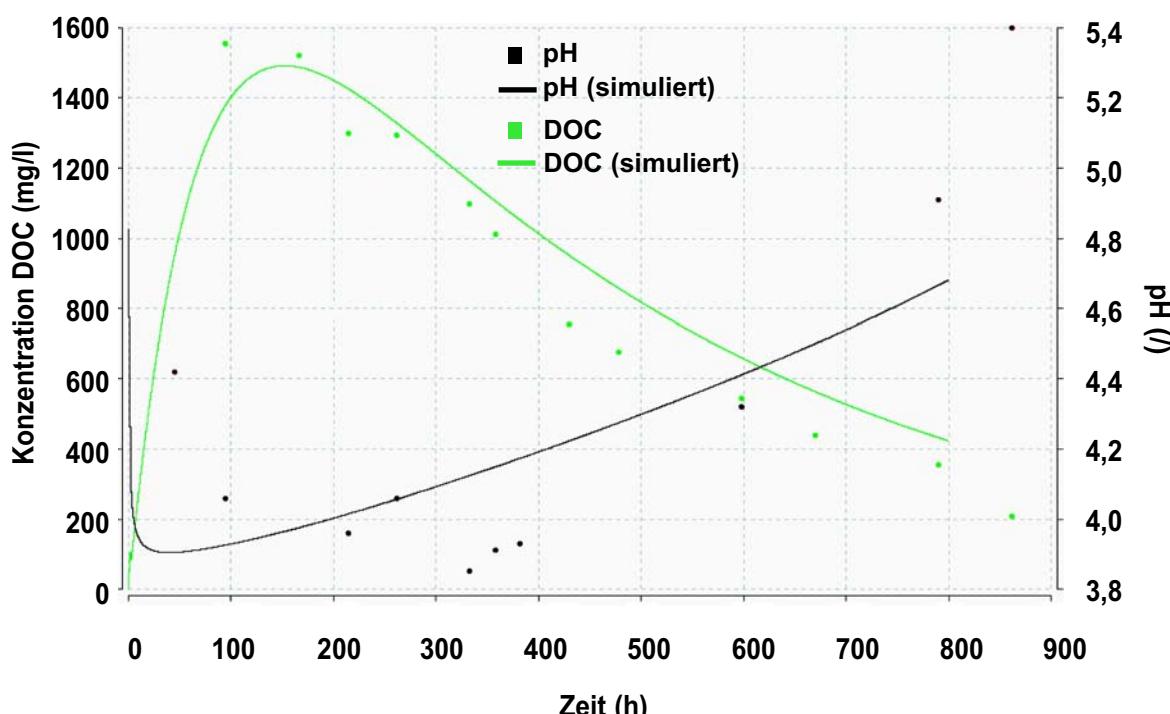


Abbildung 4.3:

Simulation DOC-Konzentration, pH-Wert in R_1 , Messwerte aus Versuch mit zweistufigem Reaktorsystem (siehe Abschnitt 3.4.5.2)

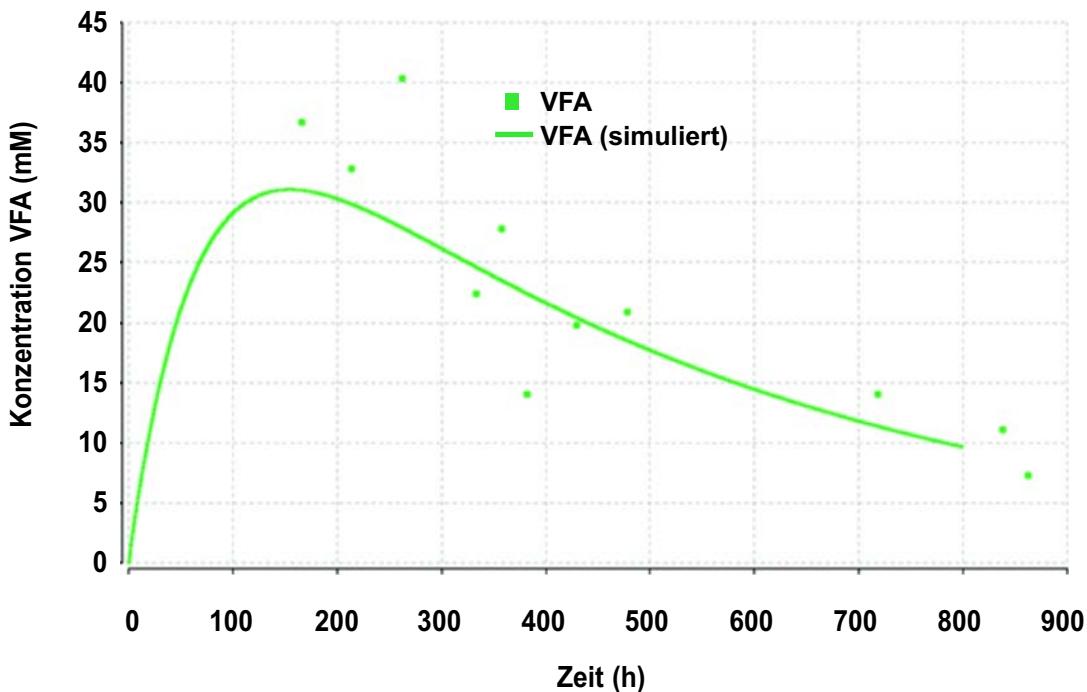
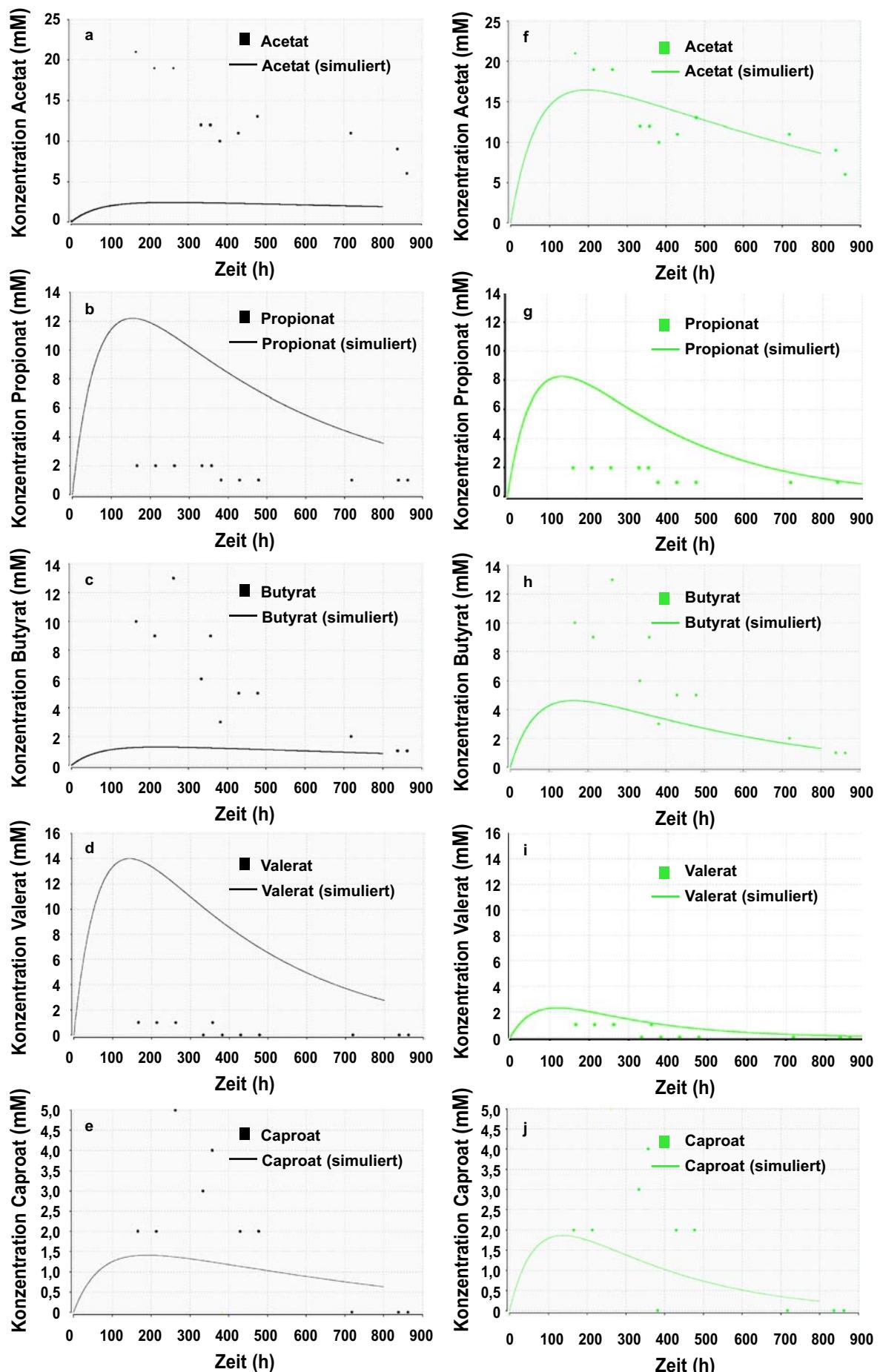


Abbildung 4.4:

Simulation VFA-Konzentration R_1 , Messwerte aus Versuch mit zweistufigem Reaktorsystem (siehe Abschnitt 3.4.5.2)

In der Simulation wurden die Konzentrationen für Acetat, Butyrat und Caproat unterschätzt, während die Konzentrationen für Propionat und Valerat deutlich über den gemessenen Werten lagen (Abbildungen 4.5 a - e).

Durch Steigerung der Begasungsrate und damit der Strippungsrate der gelösten Gase wurde die berechnete Acetatkonzentration an die gemessenen Werte angepasst. Hier ergab sich ein notwendiger 390facher stündlicher Austausch der Gasphase mit N_2 , während im Versuch die Gasphase nur 24fach ausgetauscht wurde. Der Gasstrom konnte hingegen nicht so angepasst werden, dass die Verläufe der Konzentrationen der anderen VFA wiedergegeben werden konnten (Abbildungen 4.5 f - j). Zur Deutung dieser Abweichung können unterschiedliche mögliche Erklärungen angeführt werden. Möglicherweise ist die Limitation des Modells auf die hydrolytische Bildung von Glucose nicht zulässig und andere Verbindungen, vermutlich Proteine, müssen berücksichtigt werden [Jarvis et al. 1995]. Es besteht jedoch auch die Möglichkeit, dass H_2 in R_1 durch hydrogenotrophe Reaktionen verbraucht wurde, so dass der tatsächliche Wasserstoffpartialdruck unterhalb des berechneten Wertes lag. Darüber hinaus ist es möglich, dass die Grundannahme des dynamischen Gleichgewichtes der intrazellulären Vorgänge nicht richtig war und die dynamischen Ungleichgewichte berücksichtigt werden müssen [Ruzicka 1996b].

**Abbildung 4.5:**

Simulation VFA-Konzentration R₁ (a-e: F_{G,N2} = 24 l l⁻¹ h⁻¹; f-j: F_{G,N2} = 390 l l⁻¹ h⁻¹), Messwerte aus Versuch mit zweistufigem Reaktorsystem (siehe Abschnitt 3.4.5.2)

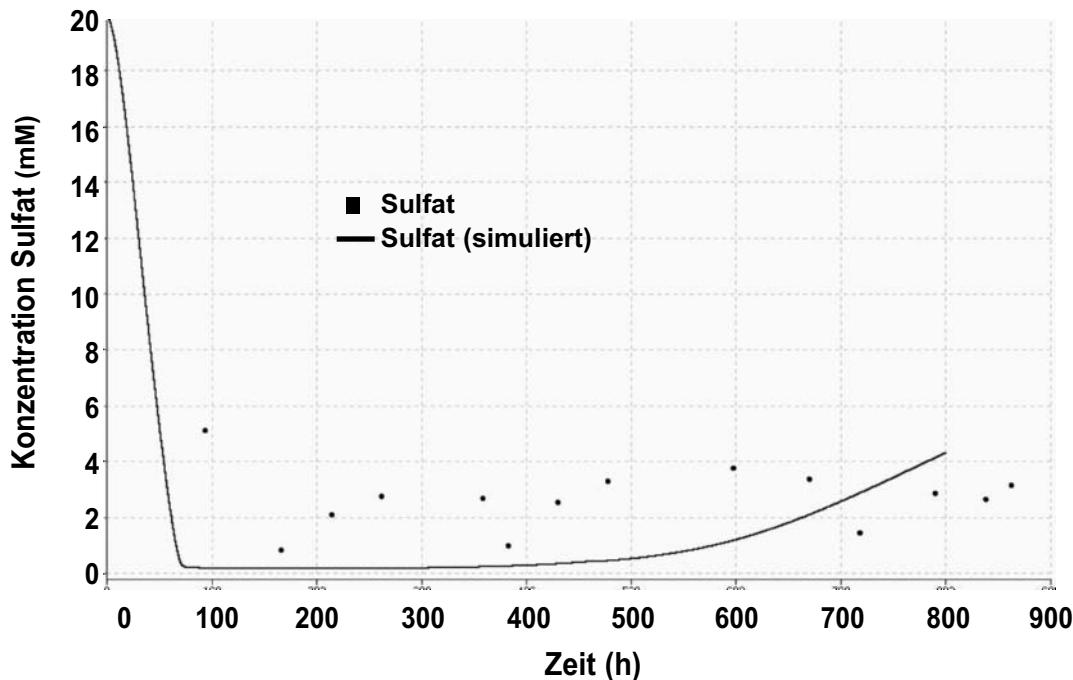


Abbildung 4.6:

Simulation Sulfatkonzentration R_2 , Messwerte aus Versuch mit zweistufigem Reaktorsystem (siehe Abschnitt 3.4.5.2)

Für die Sulfatreduktion in R_2 musste bei der Simulation berücksichtigt werden, dass aufgrund des abweichenden Spektrums an VFA mit dem syntrophen Abbau eine höhere Konzentration an H_2 bereitgestellt wurde, als es für den realen Versuch angenommen werden konnte. Es wurde deutlich, dass trotz dieser Annahme der hohen Verfügbarkeit von H_2 die stabile Sulfatreduktionsleistung nicht alleine durch die Aktivität hydrogenotroper SRB erklärt werden konnte (nicht dargestellt). In Verbindung mit einer hohen Aktivität acetotroper SRB ließ sich eine bessere Annäherung des Simulationsverlaufes an die realen Daten erreichen (Abbildung 4.6). Es besteht jedoch ebenso die Möglichkeit, dass ein erweitertes Substratspektrum der SRB berücksichtigt werden muss. Eine Veränderung des H_2 -Transfers, wie in Abschnitt 3.5 im Modell hergeleitet, könnte jedoch ebenso den Versuchsverlauf erklären.

Die Simulationsverläufe in Abbildung 4.7 und 4.8 lassen vermuten, dass zunächst ein erheblicher Anteil der verfügbaren Elektronendonoren von konkurrierenden Organismen, hier MPB, verbraucht wurde. Mit andauerndem Prozess ist jedoch anzunehmen, dass sowohl hydrogenotrophe als auch acetotrophe SRB entsprechende MPB aus dem Prozess verdrängen, sofern es keinen Überschuss an löslichem Substrat gegenüber gelöstem Sulfat in R_2 gibt [Kristjansson et al. 1982, Schönheit et al. 1982]. Der Ausbeutekoeffizient hängt somit stark von der Anpassung der Anlage an den jeweiligen Anwendungsfall ab.

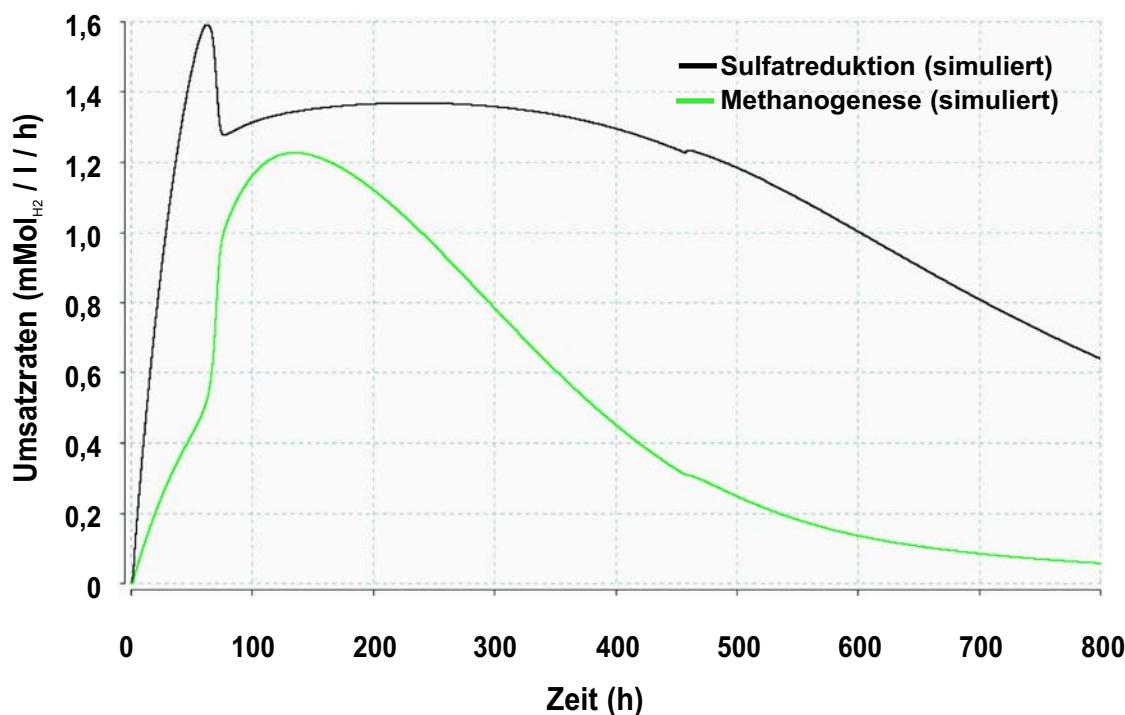
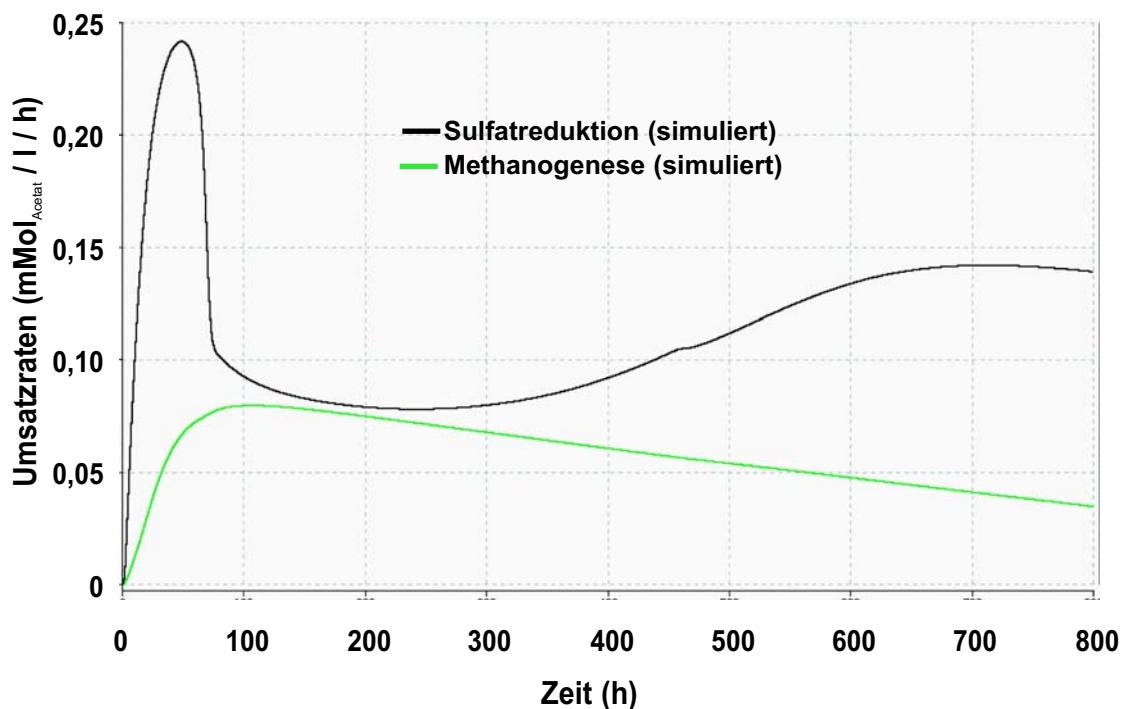


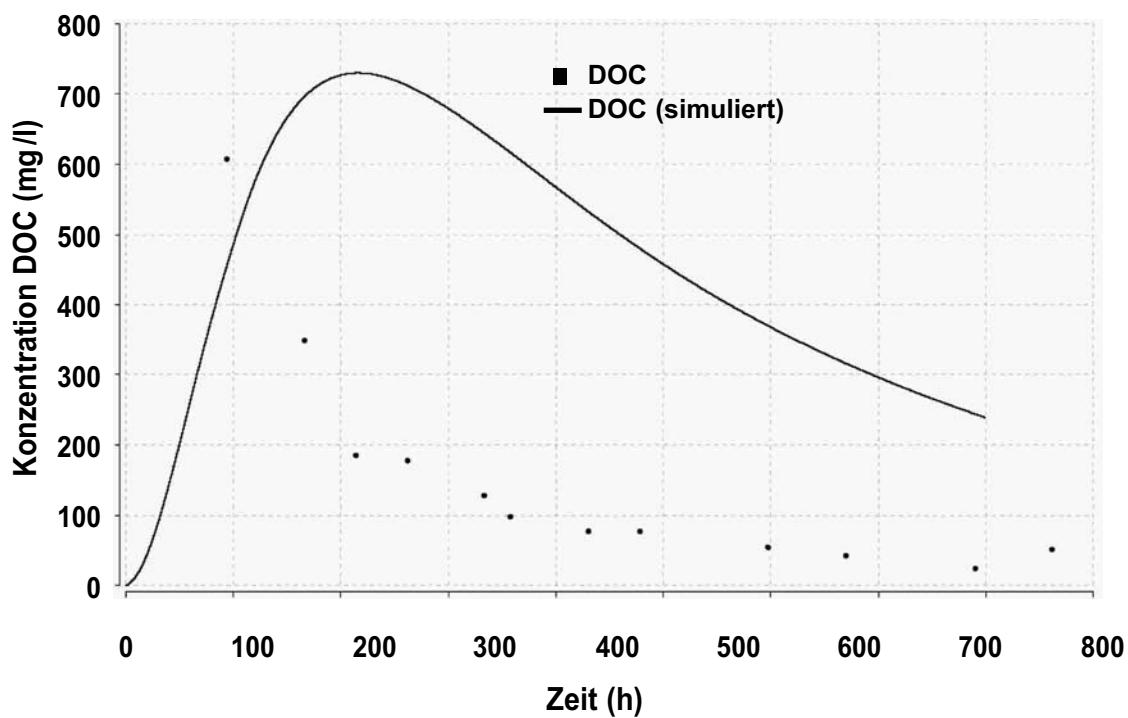
Abbildung 4.7:

Simulation Raten Sulfatreduktion und Methanogenese (hydrogenotroph) R_2

In den Abbildungen 4.9 und 4.10 wird abschließend ersichtlich, dass das Modell in seiner derzeitigen Form den effektiven Abbau des DOC in R_2 nicht erfaßte. Dies wiederum resultierte vorrangig aus der simulierten Akkumulation von Acetat in R_2 , die zu keinem Zeitpunkt in den Versuchen festgestellt werden konnte. Acetat, bekannt als relativ stabiles Intermediat, wurde also effektiv in R_2 umgesetzt. Eine Anpassung der simulierten Verläufe durch die Anpassung der Parameter der einzelnen Monod-Modelle (acetotrophe SRB und MPB) ist bisher nicht gelungen. An dieser Stelle kann wiederum in Betracht gezogen werden, dass möglicherweise in Anwesenheit akkumulierender sulfidischer Sedimente der Abbau des DOC infolge einer Veränderung des Wasserstoffpartialdruckes beschleunigt wurde. Indizien für diese Möglichkeit wurden experimentell bei der Kultivierung von *Syntrophomonas wolfei* in Anwesenheit von [NiFe]-S gefunden (vgl. Abschnitt 3.5).

**Abbildung 4.8:**

Simulation Raten Sulfatreduktion und Methanogenese (acetotroph) R_2

**Abbildung 4.9:**

Simulation DOC-Konzentration R_2 , Messwerte aus Versuch mit zweistufigem Reaktorsystem (siehe Abschnitt 3.4.5.2)

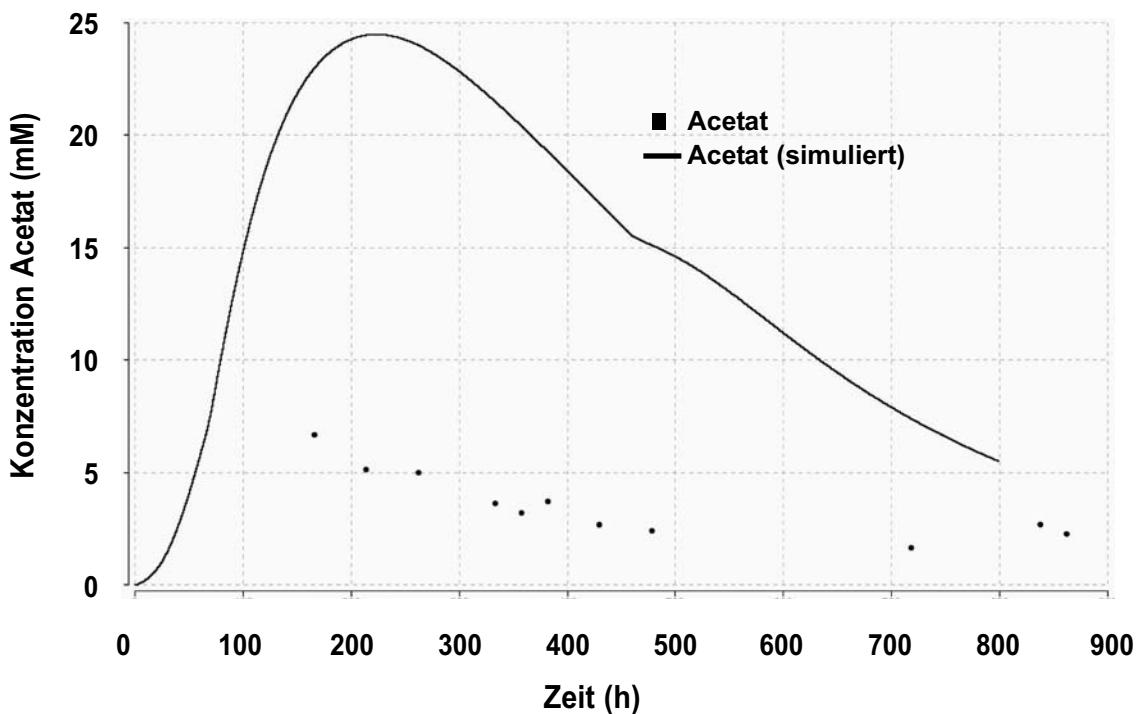


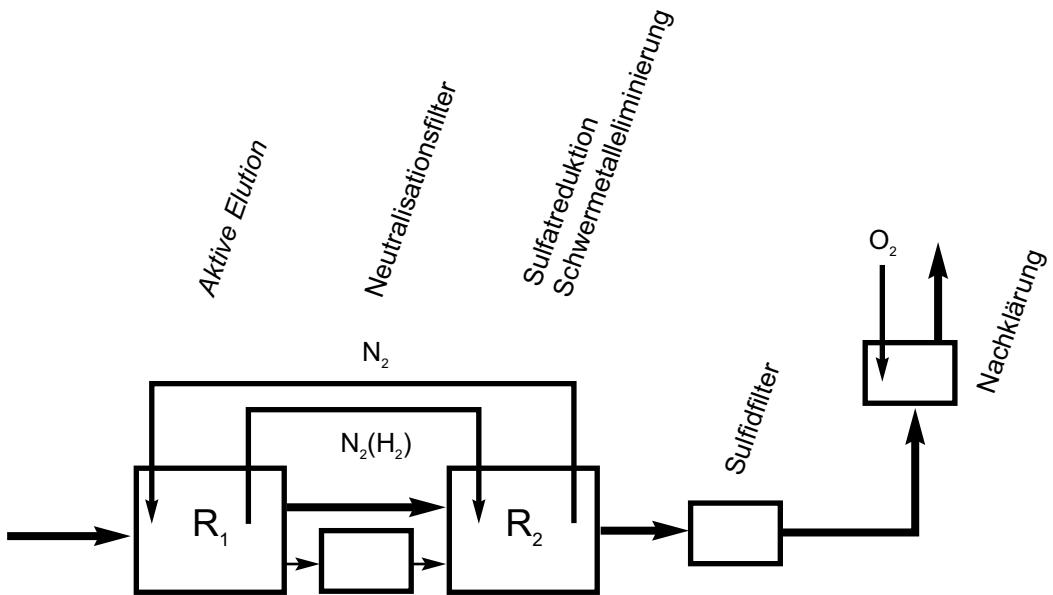
Abbildung 4.10:

Simulation Acetat-Konzentration R_2 , Messwerte aus Versuch mit zweistufigem Reaktorsystem (siehe Abschnitt 3.4.5.2)

4.7 Konzeptionierung der verfahrenstechnischen Umsetzung

4.7.1 Verfahrenstechnik und Betriebsweise

Eine verfahrenstechnische Umsetzung nach dem derzeitigen Stand der Untersuchungen kann entsprechend Abbildung 4.11 vorgenommen werden. Die Anlage sollte aus einzelnen technischen Modulen aufgebaut werden, die in Reihenschaltung spezifische Reinigungsaufgaben erfüllen. Der Zustrom zur Anlage wird zunächst in einen Reaktor R_1 (*Aktive Elution*) geleitet, in dem das *Feste Substanzgemisch Silage* vorgelegt wird. Der Ablauf aus R_1 wird Reaktor R_2 zugeführt. In dieser technischen Stufe finden Sulfatreduktion und Schwermetallfällung statt. Es kann sich im Einzelfall als notwendig erweisen, einen Teilstrom aus R_1 zu neutralisieren, um eine Versauerung von R_2 vorzubeugen. Dies kann mittels eines Neutralisationsfilters erreicht werden. Im Ablauf von R_2 müssen die Frachten überschüssigen Sulfides und DOC technisch entfernt werden, um die Einleitefähigkeit des Wassers zu garantieren. Möglichkeiten zur technischen Ausbildung der zusätzlichen Prozessmodule *Neutralisationsfilter*, *Sulfidfilter* und *Nachklärung* werden im folgenden Abschnitt dargestellt.

**Abbildung 4.11:**

Schema zur verfahrenstechnischen Umsetzung

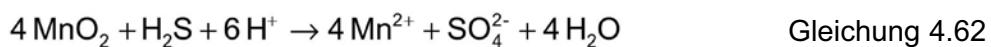
4.7.2 Zusätzliche technische Stufen

4.7.2.1 Neutralisationsfilter

Die notwendige Funktion eines Neutralisationsfilters kann eine Reaktionsstufe erfüllen, in der das saure Wasser mit einem geringlöslichen Material, das einen hohen CaCO_3 -Gehalt hat, in Kontakt gebracht wird. Unterschiedliche kreide- oder kalkhaltige Materialien wurden an anderer Stelle zur technischen Neutralisation saurer Wässer u.a. auch in Verbindung zur mikrobiellen Sulfatreduktion erfolgreich eingesetzt [Marree und du Plessis 1994, Lipp et al. 1997, Barton und Karathanasis 1999, Cravotta III und Trahan 1999].

4.7.2.2 Sulfidfilter

In Anlehnung an andere Studien kann vermutet werden, dass im Prinzip eine aerobe Stufe die vollständige biotische oder abiotische Oxidation des gelösten Sulfides gewährleisten können würde [Veritz 1988, Buismann et al. 1990, Jansen et al. 1995]. Im Rahmen der Arbeit wurde jedoch ein weiterer Ansatz untersucht, der auf der passiven Elimination von Sulfid durch Oxidation an reaktiven Oberflächen von unlöslichen Eisen(III)oxiden oder Mangan(IV)oxiden entsprechend den Gleichungen 4.61 und 4.62 basiert.



Die Relevanz dieser Prozesse in natürlichen Systemen wurde in der Vergangenheit erkannt [Herszage und Santos Afonso 2000, Böttcher und Thamdrup 2001, Neal et al. 2001]. In kontinuierlichen Säulenversuchen (Bimsstein-Festbett, anaerob) mit Fe_2O_3 bzw. MnO_2 unter Verwendung von Medium SRM (pH 7) mit 1 g/l S^{2-} konnte festgestellt werden, dass das gelöste Sulfid mit MnO_2 vollständig entfernt werden konnte (Daten nicht dargestellt). Dabei kam es zu einer Steigerung des pH-Wertes bis in Bereiche pH 9 bis pH 10. Eine Nutzbarmachung dieser Reaktionen als Filtereinheit bei der technischen Entfernung des überschüssigen Sulfides, die nur bei einem unzureichend angepassten Prozess tatsächlich notwendig ist, bietet eine interessante Möglichkeit den Prozess regelungstechnisch im Bedarfshal zu optimieren (vgl. Abschnitt 4.7.3).

4.7.2.3 Nachklärung

Die Funktion der Nachklärung ist zum einen die Entfernung der verbleibenden Restbelastung an gelösten organischen Verbindungen, die im anaeroben Prozess bis zu dieser Stufe noch nicht entfernt wurde. Dabei handelt es sich, wie dargestellt wurde, hauptsächlich um Acetat und in sehr geringen Konzentrationen um längerkettige VFA. Ein aeroben Abbau dieser Verbindungen kann i.d.R. vollständig erreicht werden. Es konnte darüber hinaus keine Belastung mit schwer abbaubaren organischen Verbindungen nachgewiesen werden. Die verfahrenstechnische Aufgabe kann also aller Voraussicht nach mit geringem technischen Aufwand mittels einer aeroben Prozessstufe unter Begasung mit Druckluft oder auch durch Stabilisierungsteiche gelöst werden [van der Steen et al. 1999]. Zum anderen müssen in dieser Stufe potenziell pathogene Keime aus dem Wasser entfernt werden. Zu diesem Zweck bietet sich die Gestaltung der aeroben Stufe in Verbindung mit einer Filtereinheit an. Zu den bestehenden Möglichkeiten hierzu zählen beispielsweise Filter mit eisenhydroxid- oder aluminiumhydroxid-beschichtetem Sand [Lukasik et al. 1999].

4.7.3 Messtechnik / Regelungstechnik / Regelungsstrategie

Es wurde gezeigt, dass das *Passive Verfahren* kontinuierlich betrieben werden konnte, sofern durch kontinuierliche Begasung mit N_2 die Prozessstufe R, hinsichtlich pH und pH_2 stabilisiert wurde. Hierzu musste zunächst kein regelungstechnischer Aufwand betrieben werden. Instabilitäten traten auf, wenn das FSG (Silage) in R, aufgebraucht war, so dass keine organischen Verbindungen eluiert werden konnten. In diesem Zeitraum bis zur Vorlage von frischem *Substanzgemisch* stieg der pH-Wert in R, stetig an und mikrobielle Sulfatreduktion und Schwermetallfällung setzten ein. Für diese Phasen muss eine Regelungsstrategie konzipiert werden. Darüber hinaus müssen jedoch technische Maßnahmen vorgesehen werden, die anderen prozessstörenden Einflüssen vorbeugen können. Die nach dem derzeitigen Stand der Erkenntnisse sinnvollste regelungstechnische

Vorgehensweise ist in den Abbildungen 4.12 und 4.13 dargestellt. Zwei konkrete Situationen sind dabei besonders zu beachten.

Im Fall von aufgebrauchtem FSG muss sowohl der pH-Wert in R_1 auf niedrigem Niveau stabilisiert als auch ausreichend Elektronendonator zur mikrobiellen Sulfatreduktion in R_2 zur Verfügung gestellt werden. Es konnte in Abschnitt 3.4.5 gezeigt werden, dass dies prinzipiell durch Dosierung einer Lösung einer organischen Säure erreicht werden kann. Die Experimente zeigten jedoch, dass Milchsäure alleine aufgrund der guten Verfügbarkeit für SRB und der damit einsetzenden Sulfatreduktion in R_1 nicht geeignet ist. Es wird vorgeschlagen, Propionsäure-Lösung auf bessere Tauglichkeit zu testen.

Im Falle hoher überschüssiger Sulfidkonzentrationen im Ablauf von R_2 (d.h. Sulfid, das nicht zur Schwermetallfällung benötigt wurde) finden die Reaktionen im Sulfidfilter entsprechend den Gleichungen 4.61 bzw. 4.62 verstärkt statt. Dies führt je nach Pufferung des Ablaufes zu einem Anstieg des pH-Wertes, so dass die Oxidation des gelösten Sulfides möglicherweise als chemischer Messverstärker genutzt werden kann.

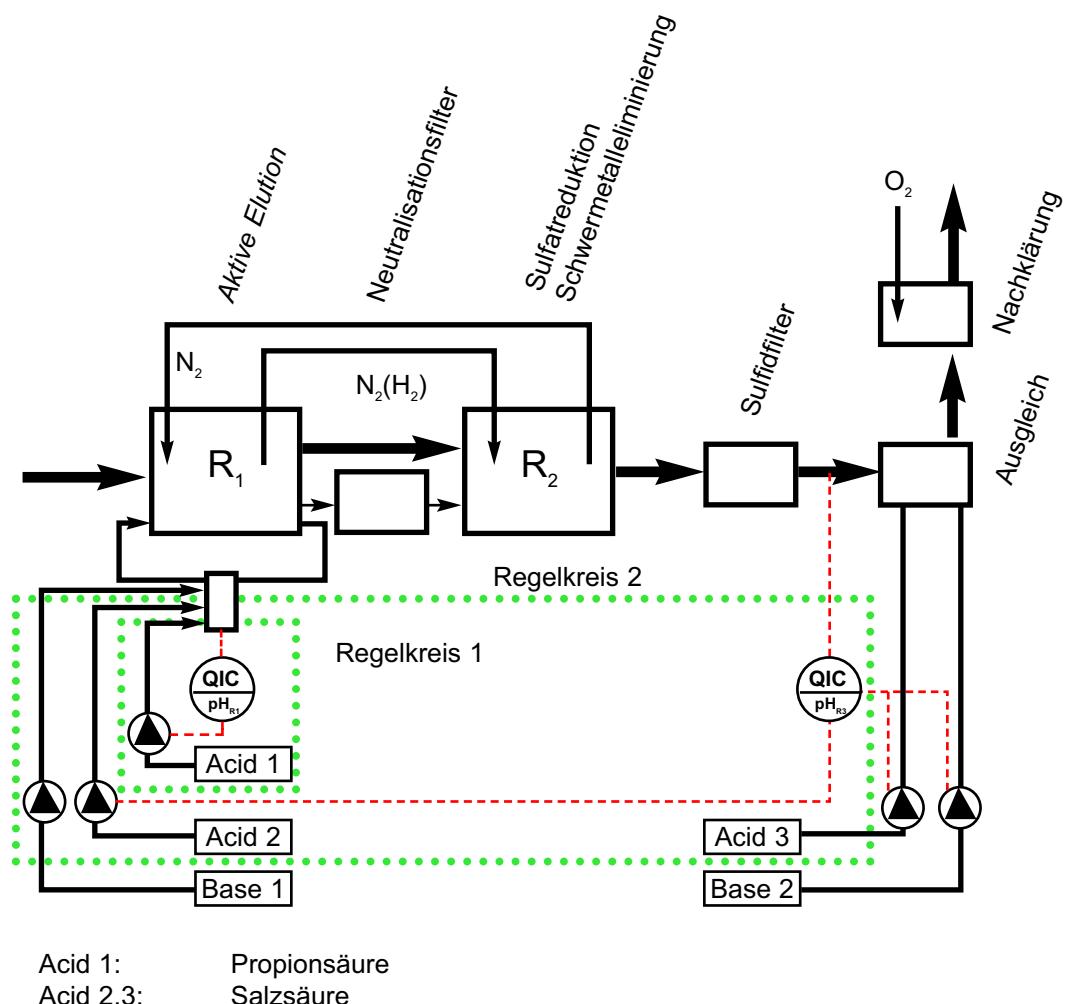


Abbildung 4.12:

Schema zur Regelungstechnischen Umsetzung

Durch Erfassung des pH-Wertes im Ablauf des Sulfidfilters könnte hier ein zweiter Regelkreis aktiviert werden, der durch Dosierung einer anorganischen Säure den pH-Wert in R₁ weiter senkt, damit die mikrobielle Aktivität in R₁ weiter limitiert und so den Gesamtprozess optimiert. Diese regelungstechnische Aufgabe wird durch einen *Adaptiven Regelungsalgorithmus* basierend auf einer Weiterentwicklung der oben dargestellten biotechnologischen Modellierung realisiert werden müssen.

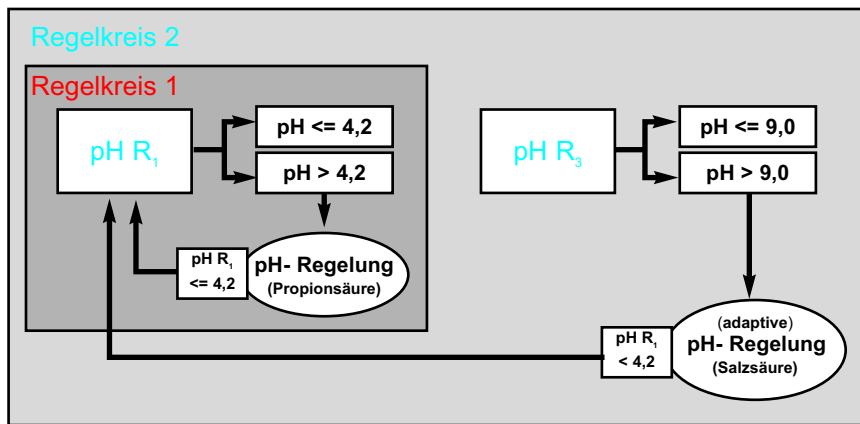


Abbildung 4.13:

Schema zum Regelungsalgorithmus

4.8 Stellenwert der Technologie im Vergleich zu bisherigen technischen Entwicklungen zur Behandlung von Bergbauwässern mittels mikrobieller Sulfatreduktion

Die bisherige Verfahrensentwicklung zeigte ein hohes Potenzial zur Verbesserung bisheriger biotechnologischer Verfahren zur Schwermetalleliminierung mittels mikrobieller Sulfatreduktion.

Dies liegt zunächst darin begründet, dass sich die bisherige Anwendung solcher Verfahren zur Behandlung von Bergbauwässern stark an Technologien zur Behandlung von industriellen Abwässern orientiert [Hulshoff Pol et al. 1998, Lens et al. 1998]. Eine Übertragung der Verfahrenstechniken scheitert in erster Linie aus ökonomischen Gründen [Rose et al. 1998, Hulshoff Pol et al. 2001].

Bisherige Verfahren beruhen bisher weniger auf dem Einsatz von *Festen Substanzgemischen*, sondern setzen Lösungen organischer Verbindungen wie Lactat [El Bayoumy et al. 1999], Ethanol [Barnes et al. 1992, Nagpal et al. 1998, 2000, de Smul et al. 1999], Methanol [Höfer et al. 1998, Wejma et al. 2000a/b, 2002, Glombitza 2001] oder auch Acetat [Dries et al. 1998, de Smul und Verstraete 1999, Steed et al. 2000] als Elektronendonoren für die mikrobielle Sulfatreduktion ein bzw. beruhen auf der Dosierung von H₂ und CO₂ [du Preez und Maree 1994, van Houten et al. 1995,

Foucher et al. 2001]. Durch den Einsatz solcher reinen Substrate lassen sich bei entsprechender verfahrenstechnischer Auslegung i.d.R. hohe Ausbeutekoeffizienten und Umsatzraten erzielen. Konkurrierende Reaktionen wie Methanogenese können dabei weitgehend inhibiert werden [Davidova und Stams 1996]. Der Einsatz solcher Substrate stellt jedoch einen erheblichen Kostenfaktor dar.

Es ist anzunehmen, dass es in herkömmlichen biotechnologischen Verfahren zur Reinigung von hochkonzentrierten industriellen Prozesswässern bei der Anwendung solcher Substrate bleiben wird (z.B. Paques-Prozess [Barnes et al. 1992, Hulshoff Pol et al. 2001]). Bei der Behandlung von Bergbauabwässern hingegen werden die Bemühungen, die kostenintensiven Substrate zu ersetzen, zunehmen [Hulshoff Pol et al. 2001].

Um die hohen Betriebskosten zu reduzieren fanden lösliche Substanzgemische wie z.B. Molke Anwendung, die kostengünstig und möglichst als industrielle bzw. landwirtschaftliche Neben- und Abprodukte verfügbar sind [Christensen et al. 1996, Rose et al. 1998].

Feste Substanzgemische, die ebenfalls als industrielle und landwirtschaftliche Neben- und Abprodukte zur Verfügung stehen, haben bisher aus unterschiedlichen Gründen nicht den Stellenwert erhalten wie lösliche Verbindungen. Im technischen Rahmen finden *Feste Substanzgemische* z.Z. außerhalb erster Versuchsansätze u.a. mit Molasse [Annachhatre und Suktrakoolvait 2001, Maree und Hill 1989] oder Heu [Zaluski et al. 1999] daher weniger Anwendung. Dies ist vor Allem darin begründet, dass der technische Einsatz solcher Substanzgemische entsprechender verfahrenstechnischer Entwicklungen bedarf und unterschiedliche Probleme bei der verfahrenstechnischen Gestaltung des Prozesses vermutet werden bzw. aufgetreten sind. Dabei ist die Tendenz zur Entwicklung *Passiver Verfahren* basierend auf mikrobieller Sulfatreduktion trotz allem steigend.

Kamen *Feste Substanzgemische* bisher zum Einsatz zielten die Entwicklungen in Hinsicht auf die mikrobiellen Prozesse auf einstufige Verfahren [Cheong et al. 1998, Kim et al. 1999, Prasad et al. 1999, Chang et al. 2000, Harris und Ragusa 2000, 2001, Cocos et al. 2002]. Es kam dabei u.a. zu Problemen, die zunächst auch im Rahmen dieser Arbeit festgestellt wurden. Hierzu zählten u.a. Schwankungen der quantitativen Stoffumsätze, zeitliche Veränderung der Substratverfügbarkeit und Instabilitäten der Milieubedingungen (E_h , pH).

Es trifft dabei zu, dass Ansätze zur Entwicklung von Einfachtechnologien unter Minimierung des technischen und ökonomischen Aufwandes i.d.R. komplexere mikrobiologische und auch physikalisch-chemische Systeme einsetzen. Die Kenntnisse der dynamischen Prozesse innerhalb solcher Systeme ist meistenteils begrenzt [Röling und van Verseveld 2002].

So existieren gegenwärtig auf der einen Seite herkömmliche Verfahrenstechniken, auf der anderen Seite gezielt genutzte natürliche Prozesse (*Constructed Wetlands, Natural*

Attenuation). Die vorliegende Arbeit zeigt, dass eine Verknüpfung beider Ansätze möglich und sinnvoll ist.

Durch die zweistufige Gestaltung des Prozesses konnten die zentralen Probleme vermieden werden. Die Umsatzraten von denen berichtet wurde (u.a. 0,04-0,25 mMol/l/h [Drury 1999], <0,04 mMol/l/h [Chang et al. 2000], 0,004-0,005 mMol/l/h [La et al. 2003]) lagen z.T. eine bis zwei Größenordnungen unterhalb der Werte in dieser Arbeit (~0,30 mMol/l/h), wobei die Vergleichbarkeit aufgrund der unterschiedlichen Substrate und behandelten Wässer nicht eindeutig gewährleistet ist. Mit diesem Stoffumsatz wird die Prozessleistung jedoch vergleichbar mit herkömmlichen *Aktiven Verfahren* [Höfer et al. 1998]. Auch in dieser Hinsicht lässt sich also die vorgeschlagene verfahrenstechnische Umsetzung als Hybridtechnologie aus herkömmlicher Bioprozesstechnik und dem Ansatz der *Constructed Wetlands* einordnen, mit absehbaren Vorteilen gegenüber den jeweils einzelnen Technologien.

4.9 Ausblick

Eine Fortführung der Arbeiten sollte sich vorrangig an der technischen Nutzbarmachung der entwickelten Technologie orientieren. Dabei sollten im weiteren zwei Bereiche besonders beachtet werden. Zunächst müssen die einzelnen Prozessstufen konstruktiv umgesetzt werden. Eine Dimensionierung sollte zunächst für den Technikumsmaßstab vorgenommen werden. Dabei sind besondere Anforderungen zu beachten, die sich aus den langfristigen Behandlungszeiträumen ergeben.

Sowohl R_1 als auch R_2 müssen als Festbettreaktoren konstruiert werden. Für R_1 muss berücksichtigt werden, dass verbrauchtes FSG diskontinuierlich ausgetauscht werden muss. Es bietet sich daher an, die Silage in festen Gebinden vorzulegen, die ohne Aufwand ausgetauscht werden können.

Da die Abscheidung der Präzipitate eine wichtige Funktion von R_2 ist, sollte der Reaktor eine ausreichend große innere Oberfläche haben. Um eine Verblockung des Reaktors zu vermeiden, kann das Festbettmaterial nicht beliebig fein sein. Um den erforderlichen Abscheidegrad zu ermöglichen sollte der Reaktor mit strömungsbrechenden Einbauten (z.B. Lamellen oder Lochplatten) versehen werden. Ebenso muss berücksichtigt werden, dass die Präzipitate diskontinuierlich entfernt werden müssen. Hierzu sollten spezielle Sedimentationszonen in Verbindung mit einer Pumpeinheit vorgesehen werden.

Basierend darauf gilt es, eine wirtschaftliche Abschätzung der Investitionskosten und Betriebskosten vorzunehmen, die zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht möglich ist.

5 Zusammenfassung

1.) Es wurde eine neuartige *Passive Technologie* zur langzeitstabilen biotechnologischen Reinigung von schwermetallbelasteten, sulfathaltigen Bergbauwässern (*Acid Mine Drainage AMD* und *Neutral Mine Drainage NMD*) als Alternative zu herkömmlichen physikalisch-chemischen und biotechnologischen Technologien konzipiert und eine Möglichkeit zur verfahrenstechnischen Umsetzung entwickelt. Die Technologie basiert auf einer technischen Kopplung von mikrobiell vermittelter Hydrolyse, Fermentation und mikrobieller Sulfatreduktion in einem selbststabilisierenden Prozess, wobei aus Abbau eines *Festen Substanzgemisches* Elektronendonor zur Sulfatreduktion bereitgestellt wird. Die Schwermetalleliminierung erfolgt vorrangig durch sulfidische Fällung. Sie wurde technisch einstufig mit der mikrobiellen Sulfatreduktion realisiert.

2.) Mit Silage wurde ein *Festes Substanzgemisch* (FSG) gewählt, das die notwendigen Anforderungen zum Einsatz im Rahmen des Verfahrens erfüllt. Die Anforderungen wurden festgelegt mit den Faktoren *Kosten und Verfügbarkeit, Bereitstellung löslicher organischer Verbindungen, Verfügbarkeit der Verbindungen für mikrobielle Sulfatreduktion* und dem *Verhalten gegenüber gelösten Schwermetallionen*. Die organischen Verbindungen wurden durch Elution bereitgestellt und / oder durch hydrolytischen Abbau von polymeren Verbindungen. Hierfür wurde der Begriff *Aktive Elution* geprägt. Es wurde für Silage keine maßgebliche Kapazität zur Biosorption der relevanten Schwermetallionen in Bergbauwässern festgestellt, so dass für die Rückstände an verbrauchter Silage zunächst keine Aufbereitung vor der Entsorgung oder Entsorgung als Sonderabfall anzunehmen ist.

3.) Die Konzeption wurde technisch zweistufig umgesetzt. In der ersten Stufe (R_1) erfolgte die (*Aktive*) Elution, in der zweiten Stufe (R_2) erfolgten Sulfatreduktion und Schwermetalleliminierung. Mit der verfahrenstechnischen Umsetzung wurde die Bereitstellung einer ausreichenden Menge an Elektronendonor in R_1 , eine effektive und stabile Sulfatreduktion als Bedingung der Schwermetalleliminierung in R_2 und eine weitgehende Trennung der mikrobiellen Prozesse in R_1 (*Aktive Elution*) und R_2 (Sulfatreduktion) bei Verweilzeiten von 69 h in R_1 und 40 h in R_2 erreicht. Zur Stabilisierung des *Passiven* Prozesses wurden Maßnahmen zur Etablierung einer stabilen Mischkultur mit den gewünschten Stoffwechselleistungen, zur technischen Stabilisierung von R_1 und R_2 und zur möglichen regelungstechnischen Einflussnahme im Falle von Prozessschwankungen getroffen.

4.) Zur Etablierung einer stabilen Mischkultur wurden unterschiedliche sulfatreduzierende Isolate u.a. von verschiedenen Bergbaustandorten, Schlamm aus einer technischen Biogasanlage und Rücklaufschlamm aus der Belebungsanlage einer

kommunalen Kläranlage zusammen als Mischkultur eingesetzt und die gewünschten Eigenschaften im kontinuierlichen Prozess selektiert.

5.) Strategien zur Kontrolle und Stabilisierung des *Passiven Verfahrens* mussten auf eine Stabilisierung der *Aktiven Elution* in R₁ zielen. Eine geeignete technische Maßnahme war die kontinuierliche leichte Begasung der Elutionstufe R₁ mit N₂. Bei kontinuierlicher Begasung mit N₂ in R₁ konnte eine weitgehende Selbststabilisierung des Gesamtprozesses ausgehend von einer Stabilisierung der Prozesse in R₁ erreicht werden. Der Einfluss der Begasung war vorrangig in einer Minderung des Wasserstoffpartialdruckes zu sehen. Acidogene Fermentationsprozesse wurden hierdurch verbessert und eine Stabilisierung des pH-Wertes bei ca. pH 4,0 bis 4,2 erreicht. Durch Senkung des pH-Wertes und Stripping von gelöstem H₂ konnte mikrobielle Sulfatreduktion in dieser Stufe nahezu vollständig verhindert und so eine Trennung der Stufen R₁ und R₂ erreicht werden.

6.) Im kontinuierlichen Prozess wurde aus dem *Festen Substanzgemisch* (FSG) Silage ausreichend DOC (*Gelöster Organischer Kohlenstoff*) zur mikrobiellen Sulfatreduktion eluiert. Als organische Verbindungen wurden hauptsächlich Acetat, Propionat, Butyrat, Valerat und Caproat (bzw. die entsprechenden Säuren) freigesetzt. Abgesehen von der Startphase oder bei Austausch der verbrauchten Silage wurde der DOC mit diesen Verbindungen nahezu vollständig erfasst. Im Anschluss an den Austausch des FSG wurde erwartungsgemäß zusätzlich Lactat eluiert, das für *Sulfatreduzierende Bakterien* leicht verfügbar ist und den kontinuierlichen Prozess bis zur erneuten Etablierung der *Aktiven Elution* in R₁ zusätzlich stabilisierte. Der in R₁ aus der Silage eluierte DOC wurde in R₂ vollständig umgesetzt und gleichzeitig ausreichend Elektronendonator für die mikrobielle Sulfatreduktion bereitgestellt.

7.) Das *Feste Substanzgemisch* (FSG) Silage als Quelle für Elektronendonator zur Sulfatreduktion hatte unter den Versuchsbedingungen eine ungefähre Standzeit von vier Wochen, die unter realen technischen Bedingungen nach dem derzeitigen Stand der Erkenntnisse verlängert werden kann. Der Austausch des FSG durch eine frische Vorlage war aus prozesstechnischer Sicht unproblematisch und führte zu keiner Beeinträchtigung der kontinuierlichen Sulfatreduktion und damit Schwermetall-eliminierung. Es wurde gezeigt, dass bei Prozessstörungen im Falle von zu spät ausgetauschtem FSG durch pH-geregelte Dosierung von Lösungen organischer Säuren der Sulfatreduktionsprozess aufrechterhalten werden konnte.

8.) Eine Beeinträchtigung der Prozessleistung und -stabilität durch die Anwesenheit unterschiedlicher Schwermetallionen Ni²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Fe²⁺ und Mn²⁺ konnte nicht festgestellt werden. Bei Behandlung von wässrigen Lösungen mit 0,2 mM der jeweiligen Metallionen konnte eine nahezu vollständige Elimination der Schwermetalle aus der

Lösung erreicht werden. Die Ablaufkonzentrationen für Cu^{2+} und Zn^{2+} lagen unterhalb der Nachweisgrenze von 60 $\mu\text{g/l}$ bzw. 30 $\mu\text{g/l}$, die Konzentrationen von Ni^{2+} und Mn^{2+} waren mit 221 $\mu\text{g/l}$ und 696 $\mu\text{g/l}$ leicht erhöht.

9.) Nach der Verfahrenskonzeption muss R_2 als Festbettreaktor gestaltet werden. Schwermetallsulfidische Präzipitate lagern sich in diesem Fall auf dem Trägermaterial ab und alle mikrobiellen Prozesse finden in Anwesenheit dieser Sedimente statt. Es wurde ein erheblicher Einfluss von diesen sulfidischen Präzipitaten auf die Stoffwechselprozesse festgestellt. Dabei wurde dieser Einfluss in Abhängigkeit von der Art der gebundenen Metallionen (Ni^{2+} oder/und Fe^{2+}) und in Abhängigkeit der relativen räumlichen Anordnung von Sediment und Biomasse festgestellt. Die Anwesenheit der Sedimente beeinflußte sowohl hydrogenogene Prozesse (z.B. Fermentation) als auch hydrogenotrophe Prozesse (z.B. mikrobielle Sulfatreduktion) insofern, als

- a) die Anwesenheit unterschiedlicher Sedimente (FeS , NiS , $[\text{NiFe}]\text{-S}$, $[\text{FeNi}]\text{-S}$) die Stoffumsätze anaerober mikrobieller Prozesse verbesserte, den Umsatz der genannten organischen Moleküle beschleunigte und syntrophe Prozesse induzierte,
- b) die größte Steigerung der mikrobiellen Umsätze in Anwesenheit der sulfidischen Schlämme bei Trennung von Schlamm und Biomasse mittels eines Dialyseeschlauchs erreicht wurde,
- c) die Zugabe unterschiedlicher sulfidischer Schlämme (FeS , $[\text{NiFe}]\text{-S}$) im Vergleich zueinander eine veränderte Strukturierung *Schlamm - Mikroorganismen* bewirkte.

10.) Schwermetallsulfidische Verbindungen haben anscheinend eine physisorptive Aktivität gegenüber H_2 . Damit hätten ubiquitäre anorganische Sedimente die Möglichkeit, H_2 reversibel zu adsorbieren, damit H_2 zu akkumulieren und lokal für hydrogenotrophe mikrobielle Reaktionen bereitzustellen. Dies könnte ein entscheidender Faktor für die Kopplung syntropher mikrobieller Reaktionen in natürlichen und technischen anaeroben Systemen sein.

11.) Es wurde ein strukturiertes mathematisches Modell für den zweistufigen Prozess ausgehend von Literaturangaben entwickelt und anhand der kontinuierlichen Laborversuche auf seine Tauglichkeit überprüft. Das Modell wurde zur Simulation des zweistufigen Prozesses eingesetzt. Aufgrund der Simulationsverläufe kann angenommen werden, dass die Kernprozesse des mikrobiellen Stoffumsatzes qualitativ erfaßt wurden. Deutliche Abweichungen zu den Versuchsdaten wurden festgestellt bei der Bildung von VFA (*Volatile Fatty Acids*) in R_1 . Es ist anzunehmen, dass hydrogenotrophe Reaktionen in dieser Prozessstufe noch nicht ausreichend berücksichtigt wurden. Die hohe Effizienz der mikrobiellen Stoffumsätze besonders in R_2

konnte durch die Simulation verdeutlicht werden, da die tatsächlichen Umsatzraten bezüglich Sulfatreduktion und DOC-Abbau in R_2 deutlich über den zunächst simulierten Werten lagen.

12.) Eine bauliche Umsetzung des Verfahrens wurde unter Einbeziehung zusätzlicher *passiver* stabilisierender Prozessstufen konzipiert. Sie sieht eine Reihenschaltung der notwendigen Prozessmodule vor. Als zusätzliche Prozessstufen zum System aus R_1 (*Aktive Elution*) und R_2 (Sulfatreduktion und Schwermetalleliminierung) wurden ein Kreidefilter zur pH-Stabilisierung in R_2 und ein Metalloxidfilter zur Eliminierung von überschüssigem Sulfid bzw. Schwefelwasserstoff im Ablauf aus R_2 vorgesehen. Zur Entfernung eventueller organischer Belastungen im Ablauf wurde eine aerobe Nachklärung in die Konzeption einbezogen.

Literaturverzeichnis

- Adams, M.W.W.; Stiefel, E.I. (2000):** Organometallic iron: the key to biological hydrogen metabolism, *Current Opinion in Chemical Biology*, 4, 214-220
- Al, T.A.; Blowes, D.W.; Martin, C.J.; Cabri, L.J.; Jambor, J.L. (1997):** Aqueous geochemistry and analysis of pyrite surfaces in sulfide-rich mine tailings, *Geochimica und Cosmochimica Acta*, 61, 12, *Geochimica und Cosmochimica Acta*, 61, 12, 2353-2366
- Annachhatre, A.P.; Suktrakoolvait, S. (2001):** Biocological sulfate reduction using molasses as a carbon source, *Water Environment Research*, 73, 1, 118-126
- Apak, R.; Tütem, E.; Hügül, M.; Hizal, J. (1998):** Heavy metal cation retention by unconventional sorbents (red muds and fly ashes), *Water Research*, 32, 2, 430-440
- Arienzo, M.; Chiarenzelli, J.; Scrudato, R. (2001):** Remediation of metal-contaminated aqueous systems by electrochemical peroxidation: an experimental investigation, *Journal of Hazardous Materials B*, 87, 187-198
- Baltpurvis, K.A.; Burns, R.C.; Lawrence, G.A. (1996):** Heavy metals in wastewater: Modelling the hydroxide precipitation of copper(II) from wastewater using lime as the precipitant, *Waste Management*, 16, 8, 717-725
- Banwart, S.A.; Malmström, M.E. (2001):** Hydrochemical modelling for preliminary assessment of minewater pollution, *Journal of Geochemical Exploration*, 74, 73-97
- Barkay, T.; Schaefer, J. (2001):** Metal and radionuclide bioremediation: issues, considerations and potentials, *Current Opinion in Microbiology*, 4, 318-323
- Barnes, L.J.; Janssen, F.J.; Scheeren, P.J.H.; Versteegh, J.H.; Koch, R.O. (1992):** Simultaneous microbial removal of sulphate and heavy metals from waste water, *Transactions of the Institution of Mining and Metallurgy*, 101, 181-187
- Barthel, G.; Fischer, H.; Scheffler, U. (1979):** Trennung und Gewinnung von Kupfer und Zink aus schwefelsauren Metallsalzlösungen durch Solventextraktion, *ERZMETALL*, 32, 176-184
- Barton, C.D.; Karathanasis, A.D. (1999):** Renovation of a failed constructed wetland treating acid mine drainage, *Environmental Geology*, 39, 1, 39-50
- Basnakova G.; Macaskie, L.E. (2001):** Microbially enhanced chemisorption of Ni^{2+} ions into biologically-synthesised hydrogen uranyl phosphate (HUP) and selective recovery of concentrated Ni^{2+} using citrate or chloride ion, *Biotechnology Letters*, 23, 67-70
- Batstone, D.J.; Keller, J.; Newell, R.B.; Newland, M. (2000a):** Modelling anaerobic degradation of complex wastewater. I: model development, *Bioresource Technology*, 75, 67-74
- Batstone, D.J.; Keller, J.; Newell, R.B.; Newland, M. (2000b):** Modelling anaerobic degradation of complex wastewater. II: parameter estimation and validation using slaughterhouse effluent, *Bioresource Technology*, 75, 75-85
- Bayhan, Y.K.; Keskinler, B.; Cakici, A.; Levent, M.; Akay, G. (2001):** Removal of divalent heavy metal mixtures from water by *Saccharomyces cerevisiae* using crossflow microfiltration, *Water Research*, 35, 9, 2191-2200
- Bebie, J.; Schoonen, M.A.A. (1999):** Pyrite and phosphate in anoxia and an origin of life hypothesis, *Earth and Planetary Science Letters*, 171, 1-5
- Beccari, M.; Bonemazzi, F.; Majone, M.; Riccardi, C. (1996):** Interaction between acidogenesis and methanogenesis in the anaerobic treatment of olive oil mill effluents, *Water Research*, 30, 1, 183-189
- Bender, J.; Duff, M.C.; Phillips, P.; Hill, M. (2000):** Bioremediation and bioreduction of dissolved U(VI) by microbial mat consortium supported on silica gel particles, *Environmental Science and Technology*, 34, 3235-3241
- Benner, S.G.; Blowes, D.W.; Gould, W.D.; Herbert, R.B.; Ptacek, C.J. (1999):** Geochemistry of a permeable reactive barrier for metals and acid mine drainage, *Environmental Science and Technology*, 33, 2793-2799
- Benner, S.G.; Blowes, D.W.; Ptacek, C.J.; Mayer, K.U. (2002):** Rates of sulfate reduction and metal sulfide precipitation in a permeable reactive barrier, *Applied Geochemistry*, 17, 301-320
- Berbenni, P.; Pollice, A.; Canziani, R.; Stabile, L.; Nobili, F. (2000):** Removal of iron and manganese from hydrocarbon contaminated groundwaters, *Bioresource Technology*, 74, 109-114
- Blowes, D.W.; Ptacek, C.J.; Jambor, J.L. (1997):** In-situ remediation of Cr(VI)-contaminated groundwater using permeable reactive walls: laboratory studies, *Environmental Science and Technology*, 31, 12, 3348-3357
- Böttcher, M.E.; Thamdrup, B. (2001):** Anaerobic sulfide oxidation and stable isotope fractionation associated with bacterial sulfur disproportionation in the presence of MnO_2 , *Geochimica und Cosmochimica Acta*, 65, 10, 1573-1581
- Boetius, A.; Ravenschlag, K.; Schubert, C.J.; Rickert, D.; Widdel, F.; Gieseke, A.; Amann, R.; Jorgensen, B.B.; Witte, U.; Pfannkuche, O. (2000):** A marine microbial consortium apparently mediating anaerobic oxidation of methane, *Nature*, 407, 623-626

- Boone, D.R.; Johnson, R.L.; Liu, Y. (1989):** Diffusion of the interspecies electron carriers H₂ and formate in methanogenic ecosystems and its implications in the measurement of K_m for H₂ or formate uptake, *Applied and Environmental Microbiology*, 55, 7, 1735-1741
- Boschker, H.T.S.; de Graaf, W.; Köster, M.; Meyer-Reil, L.-A.; Cappenberg, T.E. (2001):** Bacterial populations and processes involved in acetate and propionate consumption in anoxic brackish sediment, *FEMS Microbiology Ecology*, 35, 97-103
- Bosse, K. (2000):** Schwermetallhaltige Abwässer aus der Oberflächenbehandlung - Vermeidung, Verminderung, Behandlung, Schriftenreihe Biologische Abwasserreinigung 14, TU Berlin
- Bradford, M. (1976):** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye bonding, *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254
- Brown, P.A.; Gill, S.A.; Allen, S.J. (2000):** Metal removal from wastewater using peat, *Water Research*, 34, 16, 3907-3916
- Bryers, J.D. (1985):** Structured modeling of the anaerobic digestion of biomass particulates, *Biotechnology and Bioengineering*, 27, 638-649
- Buismann, C.J.N.; Geraats, B.G.; Ijspeert, P.; Lettinga, G. (1990):** Biotechnological sulphide removal in three polyurethane carrier reactors: stirred reactor, biorotor reactor and upflow reactor, *Water Research*, 24, 2, 245-251
- Bunce, N.J.; Chartrand, M.; Keech, P. (2001):** Electrochemical treatment of acidic aqueous ferrous sulfate and copper sulfate as model for acid mine drainage, *Water Research*, 35, 18, 4410-4416
- Burns, C.A.; Cass, P.J.; Harding, I.H.; Crawford, R.J. (1999):** Adsorption of aqueous heavy metals onto carbonaceous substrates, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 155, 63-68
- Butler, I.B.; Rickard, D. (2000):** Framboidal pyrite formation via the oxidation of iron(II) monosulfide by hydrogen sulfide, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 64, 15
- Cahill, C.L.; Benning, L.G.; Barnes, H.L.; Parise, J.B. (2000):** In situ time resolved X-ray diffraction of iron sulfides during hydrothermal pyrite growth, *Chemical Geology*, 167, 53-63
- Catalan, L.J.J.; Buset, K.C.; Yin, G. (2002):** Reactivity of oxidised sulfidic mine tailings during lime treatment, *Environmental Science and Technology*, 36, 2766-2771
- Cayol, J.-L.; Fardeau, M.-L.; Garcia, J.-L.; Ollivier, B. (2002):** Evidence of interspecies hydrogen transfer from glycerol in saline environments, *Extremophiles*, 6, 131-134
- Chang, I.S.; Shin, P.K.; Kim, B.H. (2000):** Biological treatment of acid mine drainage under sulfate-reducing conditions with solid waste materials as substrate, *Water Research*, 34, 4, 1269-1277
- Chapelle, F.H.; O'Neill, K.; Bradley, P.M.; Methé, B.A.; Ciufa, S.A.; Knobel, L.L.; Lovley, D.R. (2002):** A hydrogen-based subsurface microbial community dominated by methanogens, *Nature*, 415, 312-315
- Cheng, S.; Grosse, W.; Karrenbrock, F.; Thoenessen, M. (2002):** Efficiency of constructed wetlands in decontamination of water polluted by heavy metals, *Ecological Engineering*, 18, 317-325
- Cheong, Y.-W.; Min, J.-S.; Kwon, K.-S. (1998):** Metal removal efficiencies of substrates for treating acid mine drainage of the Dalsung mine, South Korea, *Journal of Geochemical Exploration*, 64, 147-152
- Chianese, A.; Ranauro, R.; Verdone, N. (1999):** Treatment of landfill leachate by reverse osmosis, *Water Research*, 33, 3, 647-652
- Childers, S.E.; Ciufa, S.; Lovley, D.R. (2002):** *Geobacter metallireducens* accesses insoluble Fe(III)oxide by chemotaxis, *Nature*, 416, 767-769
- Chmielewski, A.G.; Urbanski, T.S.; Migdal, W. (1996):** Separation technologies for metals recovery from industrial wastes, *Hydrometallurgy*, 45, 333-344
- Chon, H.-T.; Kim, J.-Y.; Choi, S.-Y. (1999):** Hydrogeochemical characteristics of acid mine drainage around the abandoned Youngdong Coal Mine in Korea, *Resource Geology*, 49, 2, 113-120
- Chong, A.M.Y.; Wong, Y.S.; Tam, N.F.Y. (2000):** Performance of different microalgal species in removing nickel and zinc from industrial wastewater, *Chemosphere*, 41, 251-257
- Christensen, B.; Laake, M.; Lien, T. (1996):** Treatment of acid mine water by sulfate reducing bacteria: Results from a bench scale experiment, *Water Research*, 30, 7, 1617-1624
- Chtaini, A.; Bellaloui, A.; Ballivy, G.; Narasiah, S. (2002):** Field Investigation of controlling acid mine drainage using alkaline paper mill waste, *Water, Air and Soil Pollution*, 125, 357-374
- Christ, O.; Wilderer, P.A.; Angerhöfer, R.; Faulstich, M. (2000):** Mathematical modeling of the hydrolysis of anaerobic processes, *Water Science and Technology*, 41, 3, 61-65
- Cocos, I.A.; Zagury, G.J.; Clement, B.; Samson, R. (2002):** Multiple factor design for reactive mixture selection for use in reactive walls in mine drainage treatment, *Water Research*, 32, 167-177
- Cody, G.D.; Boctor, N.Z.; Hazen, R.M.; Brandes, J.A.; Morowitz, H.J.; Yoder, H.S. (2001):** Geochemical roots of autotrophic carbon fixation: Hydrothermal experiments in the system citric acid, H₂O-(+FeS)-(+NiS), *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 65, 20, 3557-3576

- Colleran, E.; Finnegan, S.; O'Keeffe, R.B.O. (1994):** Anaerobic digestion of high sulfate content wastewater from the industrial production of citric acid, *Water Science and Technology*, 30, 12, 263-273
- Colleran, E.; Finnegan, S.; Lens, P. (1995):** Anaerobic treatment of sulfate-containing waste streams, *Antonie van Leeuwenhoek*, 67, 29-46
- Conrad, R. (1999):** Contribution of hydrogen to methane production and control of hydrogen concentrations in methanogenic soils and sediments, *FEMS Microbiology Ecology*, 28, 193-202
- Cooper, C.; Jiang, J.-Q.; Ouki, S. (2002):** Preliminary evaluation of polymeric Fe- and Al-modified clays as adsorbents for heavy metal removal in water treatment, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 77, 546-551
- Cord-Ruwisch, R.; Lovley, D.-R.; Schink, B. (1998):** Growth of *Geobacter sulfurreducens* with acetate in syntrophic cooperation with hydrogen-oxidising anaerobic partners, *Applied and Environmental Microbiology*, 64, 6, 2232-2236
- Costello, D.J.; Greenfield, P.F.; Lee, P.L. (1991a):** Dynamic modelling of a single-stage high-rate anaerobic reactor -- I. Model derivation, *Water Research*, 25, 7, 847-858
- Costello, D.J.; Greenfield, P.F.; Lee, P.L. (1991b):** Dynamic modelling of a single-stage high-rate anaerobic reactor -- II. Model verification, *Water Research*, 25, 7, 859-871
- Costley, S.C.; Wallis, F.M. (2001):** Bioremediation of heavy metals in a synthetic wastewater using an rotating biological contactor, *Water Research*, 35, 15, 3715-3723
- Cravotta III, C.A.; Trahan, M.K. (1999):** Limestone drains to increase pH and remove dissolved metals from acidic mine drainage, *Applied Geochemistry*, 14, 581-606
- Cusack, R.W.; Fremeaux, P.; Glatz, D. (1992a):** Flüssig-Flüssig-Extraktion, Grundlegende Aspekte und Verfahrensbedingungen, cav, 184-192
- Cusack, R.W.; Fremeaux, P.; Glatz, D. (1992b):** Flüssig-Flüssig-Extraktion, Methoden und Systeme, cav, 91-97
- Dai, Z.R.; Bradley, J.P. (2001):** "Iron-nickel sulfides in anhydrous interplanetary dust particles", *Geochimica and Cosmochimica Acta*, 65, 20, 3601-3612
- Dannenberg, S.; Wudler, J.; Conrad, R. (1997):** Agitation of anoxic paddy soil slurries affects the performance of the methanogenic microbial community, *FEMS Microbiology Ecology*, 22, 257-263
- Davidova, I.A.; Stams, A.J.M. (1996):** Sulfate reduction with methanol by thermophilic consortium obtained from a methanogenic reactor, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 46, 297-302
- Davison, W.; Buffle, J.; DeVitre, R. (1998):** Voltammetric characterisation of a dissolved iron sulphide species by laboratory and field studies, *Analytica Chimica Acta*, 377, 193-203
- De Baere, L. (2000):** Anaerobic digestion of solid waste: state-of-the-art, *Water Science and Technology*, 41, 3, 283-290
- Deissmann, G.; Plüger, W.L.; Kistinger, N. (1995):** Effects of redox- and pH-changes on contaminants in acid mine waters from the Ronneburg Mine (Thuringia, Germany): A comparative laboratory study, in "Uranium Mining and Hydrogeology, Proceedings of the International Conference and Workshop", Freiberg, Germany
- Demirel, B.; Yenigün, O. (2002):** Two-phase anaerobic digestion processes: a review, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 77, 743-755
- de Smul, A.; Goethals, Verstraete, W. (1999):** Effect of COD to sulfate ratio and temperature in expanded-granular sludge-blanket reactors for sulfate reduction, *Process Biochemistry*, 34, 407-416
- de Smul, A.; Verstraete, W. (1999):** Retention of sulfate-reducing bacteria in expanded granular-sludge-blanket reactors, *Water Environment Research*, 71, 4, 427-431
- Dinelli, E.; Tateo, F. (2002):** Different types of fine grained sediments associated with acid mine drainage in the Libiola Fe-Cu mine area (Ligurian Apennines, Italy), *Applied Geochemistry*, 17, 1081-1092
- Dobbek, H.; Svetlitchnyi, V.; Gremer, L.; Huber, R.; Meyer, O. (2001):** Crystal structure of a carbon monoxide dehydrogenase reveals a [Ni-4Fe-5S]cluster, *Science*, 293, 1281-1285
- Doulakas, L.; Novy, K.; Stucki, S.; Comminellis, C. (2000):** Recovery of Cu, Pb, Cd, Zn from synthetic mixture by selective electrodeposition in chloride solution, *Electrochimica Acta*, 46, 349-356
- Dries, J.; de Smul, A., Goethals, L.; Grootaerd, H.; Verstraete, W. (1998):** High rate biological treatment of sulfate rich wastewater in an acetate-fed EGSB reactor, *Biodegradation*, 9, 103-111
- Drobner, E.; Huber, H.; Wächtershäuser, G.; Rose, D.; Stetter, K.O. (1990):** Pyrite formation linked with hydrogen evolution under anaerobic conditions, *Nature*, 346, 742-744
- Drury, W.J. (1999):** Treatment of acid mine drainage with anaerobic solid substrate reactors, *Water Environment Research*, 71, 6, 1244-1250
- Drzyzga, O.; Mamouni, R.E.; Agathos, S.; Gottschal, J.C. (2002):** Dehalogenation of chlorinated ethenes and immobilisation of nickel in anaerobic sediment columns under sulfidogenic conditions, *Environmental Science and Technology*, 36, 2630-2635

- du Preez, L.A.; Maree, J.P. (1994):** Pilot-scale biological sulphate and nitrate removal utilizing producer gas as energy source, *Water Science and Technology*, 30, 12, 275-285
- Edwards, M.R. (1996):** Metabolite channeling in the origin of life, *Journal of Theoretical Biology*, 179, 313-322
- Edwards, M.R. (1998):** From a soup or a seed? Pyritic metabolic complexes in the origin of life, *TREE*, 13, 5, 178-181
- Eger, P.; Melchert, G.; Wagner, J. (2000):** Using passive treatment systems for mine closure -- a good approach or risky alternative, *Mining Engineering*, 78-83
- Ehrlich, H.L. (1997):** Microbes and metals, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 48, 687-692
- El Bayoumy, M.; Bewtra, J.K.; Ali, H.I.; Biswas, N. (1999):** Removal of heavy metals and COD by SRB in UAFF reactor, *Journal of Environmental Engineering*, 6, 532-539
- Elliott, P.; Ragusa, S.; Catcheside, D. (1998):** Growth of sulfate reducing bacteria under acidic conditions in an upflow anaerobic bioreactor as a treatment system for acid mine drainage, *Water Research*, 32, 12, 3724-3730
- El-Shafey, E.; Cox, M.; Pichugin, A.A.; Appleton, Q. (2002):** Application of carbon sorbent for the removal of cadmium and other heavy metal ions from aqueous solution, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 77, 429-436
- Ermler, U.; Grabarse, W.; Shima, S.; Goubeaud, M.; Thauer, R.K. (1998):** Active site of transition-metal enzymes with a focus on nickel, *Current Opinion in Structural Biology*, 8, 749-758
- Fang, H.H.P.; Liu, H. (2002):** Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture, *Bioresource Technology*, 82, 87-93
- Feng, D.; Aldrich, C.; Tan, H. (2000):** Treatment of acid mine water by use of heavy metal precipitation and ion exchange, *Minerals Engineering*, 13, 6, 623-642
- Ferry, J.G. (1995):** CO Dehydrogenase, *Annual Reviews in Microbiology*, 49, 305-333
- Filz, G.M.; Widdowson, M.A.; Little, J.C. (2001):** Barrier-controlled monitored natural attenuation, *Environmental Science and Technology*, 35, 3225-3230
- Finneran, K.T.; Lovley, D.R. (2001):** Anaerobic degradation of methyl-tert-butyl-ether (MTBE) and tert-Butyl alkohol (TBA), *Environmental Science and Technology*, 35, 1785-1790
- Fischer, R.; Seidel, H.; Rahner, D.; Morgenstern, P.; Löser, C. (2002):** Elimination of heavy metals from process waters of the bioleaching process by electrolysis, *Journal of Soils and Sediments*, 2, 4, 166-168
- Fonticella-Camps, J.C.; Frey, M.; Garcin, E.; Hatchikian C.; Monet, Y.; Piras, C.; Vernerde, X.;**
- Fortin, D.; Southam, G.; Beveridge, T.J. (1994):** Nickel sulfide, iron-nickel sulfide and iron sulfide precipitation by a newly isolated *Desulfotomaculum* species and its relation to nickel resistance, *FEMS Microbiology Ecology*, 14, 121-132
- Fonticella-Camps, J.C.; Frey, M.; Garcin, E.; Hatchikian, C.; Monet, Y.; Piras, C.; Vernerde, X.; Volbeda, A. (1997):** Hydrogenase: A hydrogen-metabolizing enzyme: What do the crystal structure tell us about ist mode of action?, *Biochimie*, 79, 661-666
- Fortin, D.; Roy, M.; Rioux, J.-P.; Thibault, P.-J. (2000):** Occurrence of sulfate reducing bacteria under a wide range of physico-chemical conditions in Au and Cu-Zn mine tailings, *FEMS Microbiology Ecology*, 33, 197-208
- Foucher, S.; Battaglia-Brunet, F.; Ignatiadis, I.; Morin, D. (2001):** Treatment by sulfate-reducing bacteria of Chessy acid.mine drainage and metals recovery, *Chemical Engineering Science*, 56, 1639-1645
- Fukui, M.; Takii, S. (1994):** Kinetics of sulfate respiration by free living and particle-associated sulfate-reducing bacteria, *FEMS Microbiology Ecology*, 13, 241-248
- Gadd, G.M. (2000):** Bioremedial potential of microbial mechanisms of metal mobilization and immobilization, *Current Opinion in Biotechnology*, 11, 271-279
- Galushko, A.S.; Schink, B. (2000):** Oxidation of acetate through reactions of the citric acid cycle by *Geobacter sulfurreducens* in pure culture and in syntrophic coculture, *Archives of Microbiology*, 174, 314-321
- Ganti, T. (1997):** Biogenesis itself, *Journal of Theoretical Biology*, 187, 583-593
- Garcia, C.; Moreno, D.A.; Ballester, A.; Blazquez, M.L.; Gonzalez, F. (2001):** Bioremediation of an industrial acid mine water by metal tolerant sulfate reducing bacteria, *Minerals Engineering*, 14, 9, 997-1008
- Geller, W.; Klapper, K.; Salomons, W. (1998):** Acidic Mining Lakes, Acid Mine Drainage, Limnology and Reclamation, Springer, Berlin
- Gerth, A. (2002):** Passive Behandlung von Sicker- und Flutungswässern in Constructed Wetlands, BioPlanta GmbH, Leipzig, <http://www.bioplanta-leipzig.de/projekte>
- Ghosh, S.; Henry, M.P.; Sajjad, A.; Mensinger, M.C.; Arora, J.L. (2000):** Pilot-scale gasification of municipal solid waste by high rate and two-phase anaerobic digestion, *Water Science and Technology*, 41, 3, 101-110
- Giraldo-Gomez, E.; Goodwin, S.; Switzenbaum, M.S. (1992):** Influence of mass transfer limitations on determination of half saturation constant for hydrogen uptake in a mixed-culture CH₄-producing enrichment, *Biotechnology and Bioengineering*, 40, 768-776

- Glissmann, K.; Conrad, R. (2000):** Fermentation pattern of methanogenic degradation of rice straw in anoxic paddy soil, *FEMS Microbiology Ecology*, 31, 117-126
- Glombitza, F. (2001):** Treatment of acid lignite mine flooding water by means of microbial sulfate reduction, *Waste Management*, 21, 197-203
- Gohlke, U.; Otto, A. (2000):** New variants of the separation of heavy metals from waste water, *Schriftenreihe Biologische Abwasserreinigung* 14, TU Berlin
- Gottschalk, G. (1986):** *Bacterial Metabolism* 2nd Edition, Springer-Verlag, New York
- Goulet, R.R.; Pick, F.R.; Droste, R.L. (2001):** Test of the first-order removal model for metal retention in a young constructed wetland, *Ecological Engineering*, 17, 357-371
- Green, S.C.; Howgrave-Graham, A.R.; Mlonodoboz, S. (1998):** Heavy metals uptake during anaerobic digestion of combined electroplating and brewery wastewaters, *Biotechnology Letters*, 20, 11, 1081-1084
- Gu, B.; Phelps, T.J.; Liang, L.; Dickey, M.J.; Roh, Y.; Kinsall, B.L.; Palumbo, A.V.; Jacobs, G.K. (1999):** Biogeochemical dynamics in zero-valent iron columns: Implications for permeable reactive barriers, *Environmental Science and Technology*, 33, 2170-2177
- Guerrero, L.; Omil, F.; Mendez, R.; Lema, J.M. (1999):** Anaerobic hydrolysis and acidogenesis of wastewaters from food industries with high content of organic solids and protein, *Water Research*, 33, 15, 3281-3290
- Gupta, R.; Ahula, P.; Khan, S.; Saxena, R.K.; Mohapatra, H. (2000):** Microbial biosorbents: Meeting challenges of heavy metals pollution in aqueous solutions, *Current Science*, 78, 8, 967-973
- Gutnick, D.L.; Bach, H. (2000):** Engineering bacterial biopolymers for the biosorption of heavy metals; new products and novel formulations, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 54, 451-460
- Hammack, R.W.; Edenborn, H.M. (1992):** The removal of nickel from mine waters using bacterial sulfate reduction, *Applied Microbiology Biotechnology*, 37, 674-678
- Hansen, T.A. (1993):** Carbon metabolism of sulfate-reducing bacteria, in Odom, J.M.; Singleton, R.: *The sulfate-reducing bacteria: Contemporary Perspectives*, Springer-Verlag, New York
- Harder, J. (1997):** Species-independent maintenance energy and natural population sizes, *FEMS Microbiology Ecology*, 23, 39-44
- Harper, S.R.; Pohland, F.G. (1986):** Recent developments in hydrogen management during anaerobic biological wastewater treatment, *Biotechnology and Bioengineering*, 28, 585-602
- Harris, M.A.; Ragusa, S. (2000):** Bacterial mitigation of pollutants in acid drainage using decomposable plant material and sludge, *Environmental Geology*, 40, 195-215
- Harris, M.A.; Ragusa, S. (2001):** Bioremediation of acid mine drainage using decomposable plant material in a constant flow bioreactor, *Environmental Geology*, 40, 1192-1204
- Heijthuisen, J.H.F.G.; Hansen, T.A. (1986):** Interspecies hydrogen transfer in co-cultures of methanol-utilizing acidogens and sulfate-reducing or methanogenic bacteria, *FEMS Microbiology Ecology*, 38, 57-64
- Heikkinen, P.M.; Korkka-Niemi, K.; Lahti, M.; Salonen, V.-P. (2002):** Groundwater and surface water contamination in the area of the Hitura Nickel Mine, Western Finland, *Environmental Geology*, 42, 313-329
- Herbert Jr., R.B.; Benner, S.G.; Pratt, A.R.; Blowes, D.W. (1998):** Surface chemistry and morphology of poorly crystalline iron sulfides precipitated in media containing sulfate reducing bacteria, *Chemical Geology*, 144, 87-97
- Herszage, J.; dos Santos Afonso, M. (2000):** The autoxidation of hydrogen sulfide in the presence of hematite, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 168, 61-69
- Höfer, M.; Hollmann, D.; Karnatz, F.; Löffler, R.; Glombitza, F. (1998):** Entwicklung, Aufbau und Erprobung einer kleintechnischen Versuchsanlage zur Behandlung saurer, sulfatreicher eisenhaltiger Wässer aus dem Braunkohlebergbau mit unterschiedlichen Technologien der Sulfatreduktion und der Biosorption, Abschlußbericht BMBF-Projekt 02WB9539/0, Karlsruhe 1998
- Hoehler, T.M.; Alperin, M.J.; Albert, D.B.; Martens, C.S. (1998):** Thermodynamic control on hydrogen concentrations in anoxic sediments, *Geochimica and Cosmochimica Acta*, 62, 10, 1745-1756
- Hoehler, T.M.; Alperin, M.J.; Albert, D.B.; Martens, C.S. (2001):** Apparent minimum free energy requirements for methanogenic Archaea and sulfate reducing bacteria in anoxic marine sediments, *FEMS Microbiology Ecology* 38, 33-41
- Hoh, C.-Y.; Cord-Ruwisch, R. (1996):** A practical kinetic model that considers endproduct inhibition in anaerobic digestion processes by including the equilibrium constant, *Biotechnology and Bioengineering*, 51, 597-604
- Hoh, C.-Y.; Cord-Ruwisch, R. (1997):** Experimental evidence for the need of thermodynamic considerations in modelling of anaerobic environmental bioprocesses, *Water Science and Technology*, 36, 11, 109-115
- Huang, S.Y.; Chou, M.-S. (1990):** Kinetic model for microbial uptake of insoluble solid-state substrate, *Biotechnology and Bioengineering*, 35, 547-558
- Huber, C.; Wächtershäuser, G. (1997):** Activated acetic acid by carbon fixation on (Fe,Ni)S under primordial conditions, *Science*, 276, 245-247

- Hulshoff Pol, L.W.; Lens, P.N.L.; Stams, A.J.M.; Lettinga, G. (1998):** Anaerobic treatment of sulphate-rich wastewaters, *Biodegradation*, 9, 213-224
- Hulshoff Pol, L.W.; Lens, P.N.L.; Weijma, J.; Stams, A.J.M. (2001):** New developments in reactor and process technology for sulfate reduction, *Water Science and Technology*, 44, 8, 67-76
- Hwang, S.; Hansen, C.L. (1997):** Modeling and optimisation in anaerobic bioconversion of complex substrates to acetic and butyric acid, *Biotechnology and Bioengineering*, 54, 5, 451-460
- Iribar, V.; Izco, F.; Tames, P.; Antigüedad, I.; da Silva, A. (2000):** Water contamination and remedial measures at the Troya abandoned Pb-Zn mine (The Basque Country, Northern Spain), *Environmental Geology*, 39, 7, 800-806
- Isa, Z.; Grusenmeyer, S.; Verstaete, W. (1985):** Sulfate reduction relative to methane production in high-rate anaerobic digestion, *Applied and Environmental Microbiology*, 51, 3, 572-579
- Ince, O. (1998):** Performance of a two phase anaerobic digestion system when treating dairy wastewater, *Water Research*, 32, 9, 2707-2713
- Jackson, B.E.; McInerney, M.J. (2002):** Anaerobic microbial metabolism can proceed close to thermodynamic limits, *Nature*, 415, 454-456
- Jakubick, A.T.; Jenk, U.; Kahnt, R. (2002):** Modelling of mine flooding and consequences in the mine hydrogeological environment: flooding of the Koenigstein mine, Germany, *Environmental Geology*, 42, 222-234
- Janssen, A.J.H.; Sleyster, R.; Van der Kaa, C.; Jochemsen, A.; Bontsema, J.; Lettinga, G. (1995):** Biological sulphide oxidation in a fed-batch-reactor, *Biotechnology and Bioengineering*, 47, 327-333
- Jarvis, A.; Nordberg, A.; Mathisen, B.; Svensson, B.H. (1995):** Stimulation of conversion rates and bacterial activity in a silage-fed two phase biogas process by initiating liquid recirculation, *Antonie van Leeuwenhoek*, 68, 317-327
- Johnson, D.B. (1995):** Acidophilic microbial communities: candidates for bioremediation of acidic mine effluents, *International Biodeterioration and Biodegradation*, 41, 42-58
- Johnson, D.B. (1998):** Biodiversity and ecology of acidophilic microorganisms, *FEMS Microbiology Ecology*, 27, 307-317
- Jorgensen, B.B.; Weber, A.; Zopfi, J. (2001):** Sulfate reduction and anaerobic methane oxidation in Black Sea sediments, *Deep-Sea Research* 1, 48, 2097-2120
- Juang, R.-S.; Lin, L.-C. (2000):** Treatment of complexed copper(II) solutions with electrochemical membrane processes, *Water Research*, 34, 1, 43-50
- Kaden, J.; Galushko, A.S.; Schink, B. (2002):** Cysteine-mediated electron transfer in syntrophic acetate oxidation by cocultures of *Geobacter sulfurreducens* and *Wolinella succinogenes*, *Archives of Microbiology*, 178, 53-58
- Kaksonen, A.H.; Riekkola-Vanhainen, M.L.; Puhakka, J.A. (2003):** Optimization of the metal sulphide precipitation in fluidized-bed treatment of acidic wastewater, *Water Research*, 37, 255-266
- Kalapos, M.P. (1997):** Possible evolutionary role of methylglyoxylase pathway: Anaplerotic route for reductive citric acid cycle of surface metabolists, *Journal of Theoretical Biology*, 188, 201-206
- Kalapos, M.P. (2002):** A theoretical approach to the link between oxidoreductions and pyrite formation in the early stage of evolution, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1553, 218-222
- Kalin, M. (2001):** Biogeochemical and ecological considerations in designing wetland treatment systems in post-mining landscapes, *Waste Management*, 21, 191-196
- Kalyuzhnyi, S.; Fedorovich, V.; Lens, P.; Hulshoff Pol, L.; Lettinga, G. (1998):** Mathematical modelling as a tool to study population dynamics between sulfate reducing and methanogenic bacteria, *Biodegradation*, 9, 187-199
- Karnachuk, O.V.; Kurochkina, S.Y.; Nicomrat, D.; Frank, Y.A.; Ivasenko, D.A.; Phyllipenko, E.A.; Tuovinen, O.H. (2003):** Copper resistance in *Desulfovibrio* strain R2, *Antonie van Leeuwenhoek*, 83, 99-106
- Kießig, G.; Hermann, E. (2000):** Nachfolgelösungen für die konventionelle Wasserbehandlung, WISMUT Tagungsband Internationale Konferenz Bergbausanierung Wismut 2000, Schlema
- Kim, S.D.; Kilbane II, J.J.; Cha, D.K. (1999):** Preventions of acid mine drainage by sulfate reducing bacteria: Organic substrate addition to mine waste piles, *Environmental Engineering Science*, 16, 2, 139-145
- Kisaalita, W.S.; Lo, K.V.; Pinder, K.L. (1989):** Influence of dilution rate on the acidogenic phase products distribution during two-phase lactose anaerobiosis, *Biotechnology and Bioengineering*, 34, 1235-1250
- Kleerebezem, R.; Stams, A.J.M. (2000):** Kinetics of syntrophic cultures: a theoretical treatise on butyrate fermentation, *Biotechnology and Bioengineering*, 67, 5, 529-543
- Kristjansson, J.K.; Schönheit, P.; Thauer, R.K. (1982):** Different K_s values for hydrogen of methanogenic bacteria and sulfate reducing bacteria: An explanation for the apparent inhibition of methanogenesis by sulfate, *Archives of Microbiology*, 131, 278-282

- Krylova, N.I.; Conrad, R. (1998):** Thermodynamics of propionate degradation in methanogenic paddy soil, FEMS Microbiology Ecology, 26, 281-288
- La, H.-J.; Kim, K.-H.; Quan, Z.-X.; Cho, Y.-G.; Lee, S.-T. (2003):** Enhancement of sulfate reducing activity using granular sludge in anaerobic treatment of acid mine drainage, Biotechnology Letters, 25, 503-508
- Labib; Ferguson, J.F.; Benjamin, M.M.; Merigh, M.; Ricker, N.L. (1992):** Anaerobic butyrate degradation in a fluidized-bed reactor: Effects of increased concentrations of H₂ and acetate, Environmental Science and Technology, 26, 369-376
- Lay, J.J. (2000):** Modeling and Optimisation of anaerobic digested sludge converting starch to hydrogen, Biotechnology and Bioengineering, 68, 3, 269-278
- Ledin, M.; Pedersen, K. (1996):** The environmental impact of mine wastes - Roles of microorganisms and their significance in treatment of mine wastes, Earth-Science Reviews, 41, 67-108
- Leighton, I.R.; Forster, C.F. (1997):** The adsorption of heavy metals in an acidogenic thermophilic anaerobic reactor, Water Research 31,2, 2969-2972
- Lens, P.N.L.; Visser, A.; Janssen, A.J.H.; Hulshoff Pol, L.W.; Lettinga, G. (1998):** Biotechnological treatment of sulfate rich wastewaters, Critical Reviews in Environmental Science and Technology 28, 1, 41-88
- Lettinga, G.; Rebac, S.; Parshina, S.; Nozhevnikova, A.; Van Lier, J.B.; Stams, A.J.M. (1999):** High-rate anaerobic treatment of wastewater at low temperature, Applied and Environmental Microbiology, 65, 4, 1696-1702
- Lide, D.R. (1996):** Handbook of Chemistry and Physics, 76th Edition 1995-1996, CRC Press, Boca Raton
- Lin, X.; Burns, R.C.; Laswrance, G.A. (1998):** Effect of electrolyte composition, and of added iron(III) in the presence of selected organic complexing agents, on nickel(II) precipitation by lime, Water Research, 32, 12, 3637-3645
- Lipp, P.; Schmitt, A.; Baldauf, G. (1997):** Treatment of soft reservoir water by limestone filtration in combination with ultrafiltration, Desalination, 113, 285-292
- Liu, Y.; Fang, H.H.P. (1998):** Precipitates in anaerobic granules treating sulfate bearing wastewater, Water Research, 32, 9, 2627-2632
- Lloyd, J.R.; Blunt-Harris, E.L.; Lovley, D.R. (1999):** The periplasmic 9,6-Kilodalton c-type cytochrome of *Geobacter sulfurreducens* is not an electron shuttle to Fe(III), Journal of Bacteriology, 181 (24), 7647-7649
- Lloyd, J.R.; Lovley, D.R. (2001):** Microbial detoxification of metals and radionuclides, Current Opinion in Biotechnology, 12, 248-253
- Löser, C.; Zehnsdorf, A.; Hoffmann, P.; Seidel, H. (2002):** Reinigung schwermetallbelasteter Sedimente durch Bioloaching - Schlussbericht, UFZ-Bericht Nr. 13/2002, UFZ-Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH, Leipzig
- Lorowitz, W.H.; Zhao, H.; Bryant, M.P. (1989):** *Syntrophomonas wolfei* subsp. *saponavida* subsp. nov., a long-chain fatty acid degrading, anaerobic syntrophic bacterium; *Syntrophomonas wolfei* subsp. *wolfei* subsp. nov.; and emended descriptions of the genus and species, International Journal of Systematic Bacteriology, 39, 2, 122-126
- Lovley, D.R. (1995):** Bioremediation of organic and metal contaminants with dissimilatory metal reduction, Journal of Industrial Microbiology, 14, 85-93
- Lovley, D.R.; Coates, J.D. (1997):** Bioremediation and metal contamination, Current Opinion in Biotechnology, 8, 285-289
- Lovley, R.L.; Goodwin, S. (1988):** Hydrogen concentrations as an indicator of the predominant terminal electron-accepting reactions in aquatic sediments, Geochimica et Cosmochimica Acta, 52, 2993-3003
- Lukasik, J.; Cheng, Y.-F.; Lu, F.; Tamplin, M.; Farrah, S. (1999):** Removal of microorganisms from water by columns containing sand coated with ferric and aluminium hydroxides, Water Research, 33, 3, 769-777
- Lutze, W. (2000):** Development and implementation of innovative technology for the remediation of contaminated aquifers, WISMUT Tagungsband, Internationale Konferenz Bergbausanierung, 11.-14.07. 2000
- Macaskie, L.E.; Empson, R.M.; Cheetham, A.K.; Grey, C.P.; Skarnulis, J. (1992):** Uranium bioaccumulation by a *Citrobacter* sp. As a result of enzymatically mediated growth of polycrystalline HUO₂PO₄, Science, 257, 782-784
- Machemer, S.D.; Wildeman, T.R. (1992):** Adsorption compared with sulfide precipitation as metal removal processes from acid mine drainage in a constructed wetland, Journal of Contaminant Hydrology, 9, 115-131
- Maillacheruvu, K.Y.; Parkin, G.F.; Peng, C.Y.; Kuo, W.C.; Oonge, Z.I.; Lebduschka, V. (1993):** Sulfide toxicity in anaerobic systems fed sulfate and various organics, Water Environment Research, 65, 2, 100-109
- Maree, J.P.; du Plessis, P. (1994):** Neutralisation of acid mine water with calcium carbonate, Water Science and Technology, 29, 9, 285-296

- Maree, J.P.; Hill, E. (1989):** Biological removal of sulphate from industrial effluents and concomitant production of sulphur, *Water Science Technology*, 21, 265-276
- Marr, A.C.; Spencer, D.J.E.; Schröder, M. (2001):** Structural mimics for the active site of [NiFe] hydronase, *Coordination Chemistry Reviews*, 219-221, 1055-1074
- Mata-Alvarez, J.; Mace, S.; Llabres, P. (2000):** Anaerobic digestion of organic solid wastes: An overview of research achievements and perspectives, *Bioresource Technology*, 74, 3-16
- Mays, P.A.; Edwards, G.S. (2000):** Comparison of heavy metal accumulation in a natural wetland and constructed wetlands receiving acid mine drainage, *Ecological Engineering*, 16, 487-500
- McInerney, M.J.; Mackie, R.I.; Bryant, M.P. (1981a):** Syntrophic association of a butyrate degrading bacterium and *Methanosarcina* enriched from bovine rumen fluid, *Applied and Environmental Microbiology*, 41, 3, 826-828
- McInerney, M.J.; Bryant, M.P.; Hespell, R.B.; Costerton, J.W. (1981b):** *Syntrophomonas wolfei* gen. nov. sp. nov., an anaerobic syntrophic fatty acid oxidising bacterium, *Applied and Environmental Microbiology*, 41, 4, 1029-1039
- Mejare, M.; Bülow, L. (2001):** Metal-binding proteins and peptides in bioremediation and phytoremediation of heavy metals, *Trends in Biotechnology*, 19, 2, 67-73
- Michaelis, W.; Seifert, R.; Nauhaus, K.; Treude, T.; Thiel, V.; Blumenberg, M.; Knittel, K.; Gieseke, A.; Peterknecht, K.; Pape, T.; Boetius, A.; Amann, R.; Jorgensen, B.B.; Widdel, F.; Peckmann, J.; Pimenov, N.V.; Gulin, M.B. (2002):** Microbial reefs in the black sea fueled by anaerobic oxidation of methane, *Science*, 297, 1013-1015
- Mizuno, O.; Li, Y.Y.; Noike, T. (1998):** The behaviour of sulfate-reducing bacteria in acidogenic phase of anaerobic digestion, *Water Research*, 32, 5, 1626-1634
- Morvan, B.; Rieu-Lesme, F.; Fonty, G.; Gouet, P. (1996):** In vitro interactions between rumen H₂-producing cellulolytic microorganisms and H₂-utilising acetogenic and sulfate-reducing microorganisms, *Anaerobe*, 2, 175-180
- Mosey, F.E. (1983):** Mathematical modelling of the anaerobic digestion process: regulatory mechanisms for the formation of short chain volatile acids from glucose, *Water Science and Technology*, 15, 209-232
- Muralidharan, V.; Rinker, K.D.; Hirsh, I.S.; Bouwer, E.J. (1997):** Hydrogen transfer between methanogens and fermentative heterotrophs in hyperthermophilic cocultures, *Biotechnology and Bioengineering*, 56, 3, 268-278
- Nagpal, S.; Chuichulcherm, S.; Livingston, A.; Peeva, L. (1998):** Ethanol utilization by sulfate-reducing bacteria: An Experimental and Modeling Study, *Biotechnology and Bioengineering*, 70, 533-543
- Nagpal, S.; Chuichulcherm, S.; Peeva, L.; Livingston, A. (2000):** Microbial sulfate reduction in a liquid-solid fluidised bed reactor, *Biotechnology and Bioengineering*, 70, 4, 370-380
- Nakamura, K. (1988):** Biological metal removal from mine drainage, US-Department of the Interior, Bureau of Mines; International Land Reclamation and Mine Drainage
- Neal, A.L.; Techkarnjanaruk, S.; Dohnalkova, A.; McCready, D.; Peyton, B.M.; Geesey, G.G. (2001):** Iron sulfides and sulfur species produced at hematite surfaces in the presence of sulfate-reducing bacteria, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 65, 2, 223-235
- Newman, D.K.; Kolter, R. (2000):** A role for excreted quinones in extracellular electron transfer, *Nature*, 405, 94-97
- Nicolet, Y.; Lemon, B.J.; Fontecilla-Camps, J.C.; Peters, J.W. (2001):** A novel FeS cluster in Fe-only hydrogenase, *TIBS* 25, 138-143
- Nielsen, J.; Villadsen, J. (1992):** Modelling of microbial kinetics, *Chemical Engineering Science*, 47, 17/18, 4225-4270
- Niewöhner, C.; Hensen, C.; Kasten, S.; Zabel, M.; Schulz, H.D. (1998):** Deep sulfate reduction completely mediated by anaerobic methane oxidation in sediments of the upwelling area of Namibia, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 62, 3, 455-464
- Nuttall, C.A.; Younger, P.L. (2000):** Zinc removal from hard circum-neutral mine waters using a novel closed bed limestone reactor, *Water Research*, 34, 4, 1262-1268
- Öztürk, S.S.; Palsson, B.O.; Thiele, J.; Zeikus, J.G. (1987):** Modeling of interspecies hydrogen transfer in microbial flocs, *Biotechnology Processes*
- O'Flaherty, V.; Colohan, S.; Mulkerrins, D.; Colleran, E. (1999):** Effect of sulphate addition on volatile fatty acid and ethanol degradation in an anaerobic hybrid reactor. II: microbial interactions and toxic effects, *Bioresource Technology*, 68, 109-120
- O'Flaherty, V.; Colleran, E. (1998):** Effect of sulphate addition on volatile fatty acid and ethanol degradation in an anaerobic hybrid reactor. I: process disturbance and remediation, *Bioresource and Technology*, 68, 101-107

- Omil, F.; Lens, P.; Visser, A.; Hulshoff-Pol, L.W.; Lettinga, G. (1998):** Long-term competition between sulfate reducing and methanogenic bacteria in UASB reactors treating volatile fatty acids, *Biotechnology and Bioengineering*, 57, 6, 676-685
- Ortiz, N.; Pires, M.A.F.; Bressiani, J.C. (2001):** Use of steel converter slag as nickel adsorber to wastewater treatment, *Waste Management*, 21, 631-635
- Oude Elferink, S.J.W.H.; Vorstmann, W.J.C.; Sopjes, A.; Stams, A.J.M. (1998):** Characterization of the sulfate-reducing and syntrophic population in granular sludge from a full-scale anaerobic reactor treating papermill wastewater, *FEMS Microbiology Ecology*, 27, 185-194
- Paschke, A.; Lazik, D.; Segner, H.; Büttner, E. (1996):** Elutionsverhalten und ökotoxikologisches Potenzial von Sonderabfällen, UFZ-Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH, Leipzig
- Pavan, P.; Battistoni, P.; Cecchi, F.; Mata-Alvarez, J. (2000):** Two-phase anaerobic digestion of source sorted OFMSW (organic fraction of municipal solid waste): performance and kinetic study, *Water Science and Technology*, 41, 3, 111-118
- Peckmann, J.; Reimer, A.; Luth, U.; Luth, C.; Hansen, B.T.; Heinicke, C.; Hoefs, J.; Reitner, J. (2001):** Methane-derived carbonates and authigenic pyrite from the northwestern Black Sea, *Marine Geology*, 177, 129-150
- Pietzsch, K. (2000):** Eliminierung von U(VI) aus wässrigen Medien durch Bioreduktion zu schwer löslichem U(IV) (Uraninit), Dissertation, Leipzig
- Polat, M.; Guler, E.; Gul, A.; Mordogan, H.; Ipekoglu, U.; Cohen, H. (2002):** Neutralisation of acid mine drainage by Turkish lignitic fly ashes: role of organic additives in the fixation of toxic elements, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 77, 372-376
- Prasad, D.; Wai, M.; Berube, P.; Henry, J.G. (1999):** Evaluating substrates in the biological treatment of acid mine drainage, *Environmental Technology*, 20, 449-458
- Ragsdale, S.W. (1998):** Nickel biochemistry, *Current Opinion in Chemical Biology*, 2, 208-215
- Raskin, L.; Rittman, B.E.; Stahl, D.A. (1996):** Competition and coexistence of sulfate reducing and methanogenic populations in anaerobic biofilms, *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 10, 3847-3857
- Rebac, S.; Gerbens, S.; Lens, P.; van Lier, J.B.; Stams, A.J.M.; Keesmann, K.J.; Lettinga, G. (1999):** Kinetics of fatty acid degradation by psychrophilically grown anaerobic granular sludge, *Bioresource Technology*, 69, 241-248
- Ren, N.; Wang, B.; Huang, J.-C. (1997):** Ethanol-type fermentation from carbohydrate in high rate acidogenic reactor, *Biotechnology and Bioengineering*, 54, 428-433
- Rickard, D.; Butler, I.B.; Oldroyd, A. (2001):** A novel iron sulfide mineral switch and its implications for earth and planetary science, *Earth and Planetary Science Letters*, 189, 85-91
- Rickard, D.; Luther III, G.W. (1997a):** Kinetics of pyrite formation by the H_2S oxidation of iron(II) monosulfide in aqueous solutions between 25 and 125°C: The rate equation, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 61, 1, 115-134
- Rickard, D.; Luther III, G.W. (1997b):** Kinetics of pyrite formation by the H_2S oxidation of iron(II) monosulfide in aqueous solutions between 25 and 125°C: The mechanism, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 61, 1, 135-147
- Rio, S.; Dellebarre, A.; Hequet, V.; Le Cloirec, P.L.; Blondin, J. (2002):** Metallic ion removal from aqueous solutions by fly ashes: multicomponent studies, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 77, 382-388
- Rittmann, B.E. (2000):** Natural attenuation for groundwater remediation, National Research Council, National Academy Press, Washington
- Röhling, W.F.M.; van Verseveld, H.W. (2002):** Natural attenuation: What has the subsurface have in store, *Biodegradation*, 13, 53-64
- Rose, P.D.; Boshoff, G.A.; van Hille, R.P.; Wallace, L.C.; Dunn, K.M.; Duncan, J.R. (1998):** An integrated algal sulphate reducing high rate ponding process for the treatment of acid mine drainage wastewaters, *Biodegradation*, 9, 247-257
- Roostai, A.H.; Seiffe, E.; Siewers, U.; Paul, M.; Vogel, D. (2002):** Qualitätskriterien für Nickel zum Schutz der "aquatischen Lebensgemeinschaften" im Ronneburger Uranbergbaurevier in Thüringen, Sonderhefte Reihe D - Geol. Jahrb., Heft 4
- Ruse, M. (1997):** The origin of life: Philosophical perspectives, *Journal of Theoretical Biology*, 187, 473-482
- Ruzicka, M. (1996a):** An extension to the Mosey Model, *Water research*, 30, 10, 2440-2446
- Ruzicka, M. (1996b):** The effect of hydrogen on acidogenic cleavage, *Water research*, 30, 10, 2447-2451
- Sai Ram, M.; Singh, L.; Suryanarayana, M.V.S.; Alam, S.I. (2000):** Effect of iron, nickel and cobalt on bacterial activity and dynamics during anaerobic oxidation of organic matter, *Water, Air and Soil Pollution*, 117, 305-312
- Sander, R. (1999):** Compilation of Henry's Law Constants for Inorganic and Organic Species of potential importance in Environmental Chemistry, <http://www-mpch-mainz.mpg.de/~sander/res/henry.html>

- Sani, R.K.; Peyton, B.M.; Jandhyala, M. (2003):** Toxicity of lead in aqueous medium to *Desulfovibrio Desulfuricans* G20, Environmental Toxicology and Chemistry, 22, 2, 252-260
- Schink, B. (1997):** Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation, Microbiology and Molecular Biology Reviews, 61, 2, 262-280
- Schink, B. (2002):** Synergistic interactions in the microbial world, *Antonie van Leeuwenhoek*, 81, 257-261
- Schneider, I.A.H.; Rubio, J.; Smith, R.W. (2002):** Biosorption of metals onto plant biomass: exchange adsorption or surface precipitation?, International Journal of Minerals Processing, 62, 111-120
- Schoemann, J.J.; Steyn, A. (2001):** Investigation into alternative treatment technologies for the treatment of underground mine water discharged by Grootvlei Proprietary Mines Ltd. Into the Blesbokspruit in South Africa, Desalination, 13, 13-30
- Schönheit, P.; Kristjansson, J.K.; Thauer, R.K. (1982):** Kinetic mechanism for the ability of sulfate reducers to out-compete methanogens for acetate, Archives of Microbiology, 132, 285-288
- Scholes, L.; Shutes, R.B.E.; Revitt, D.M.; Forshaw, M.; Purchase, D. (1998):** The treatment of metals in urban runoff by constructed wetlands, *The Science of the Total Environment*, 214, 211-219
- Scholz, M.; Xu, J.; Dodson, H.I. (2001):** Comparision of filter media, plant communities and microbiology within constructed wetlands treating wastewater containing heavy metals, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 76, 827-835
- Scholz, M.; Xu, J. (2002):** Comparision of constructed reed beds with different filter media and macrophytes treating urban stream water contaminated with lead and copper, *Ecological Engineering*, 18, 385-390
- Schouten, S.; Wakeham, S.G.; Sinninghe Damste, J.S. (2001):** Evidence for anaerobic methane oxidation by archaea in euxinic waters of the Black Sea, *Organic Geochemistry*, 32, 1277-1281
- Schreck, P.; Gläßer, W. (1997):** Reststoffe der Kupferschieferverhüttung Teil 1: Mansfelder Kupferschlacken, UFZ-Bericht 23/1997, UFZ-Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH, Leipzig
- Schulz, S.; Conrad, R. (1996):** Influence of temperature on the pathways of methane production in the permanently cold profundal sediment of Lake Constance, *FEMS Microbiology Ecology*, 20, 1-14
- Seeliger, S.; Cord-Ruwisch, R.; Schink, B. (1998):** A periplasmic and extracellular c-type cytochrome of *Geobacter sulfurreducens* acts as a ferric iron reductase and as electron carrier to other acceptors or to partner bacteria, *Journal of Bacteriology*, 180, 14, 3686-3691
- Seidel, H.; Wennrich, R.; Morgenstern, P.; Löser, C. (2002):** Effektivität der Abtrennung der Schwermetalle und von Sulfat aus Bioleaching-Prozesswässern durch Alkalisierung, *Vom Wasser*, 99, 39-52
- Singleton, R. (1993):** The sulfate-reducing bacteria: An overview, in Odom, J.M.; Singleton, R.: *The sulfate-reducing bacteria: Contemporary Perspectives*, Springer-Verlag, New York
- Sobolewski, A. (1996):** Metal species indicate the potential of constructed wetlands for long term treatment of metal mine drainage, *Ecological Engineering*, 6, 259-271
- Song, Y.-C.; Piak, B.-C.; Shin, H.-S.; La, S.-J. (1998):** Influence of electron donor and toxic materials on the activity of sulfate reducing bacteria for the treatment of electroplating wastewater, *Water Science Technology*, 38, 4-5, 187-194
- Sorensen, K.B.; Finster, K.; Ramsing, N.B. (2001):** Thermodynamic and kinetic requirements in anaerobic methane oxidising consortia exclude hydrogen, acetate, and ethanol as possible electron shuttles, *Microbial Ecology*, 42, 1-10
- Stams, A.J.M.; Dong, X. (1995):** Role of formate and hydrogen in the degradation of propionate and butyrate by defined suspended cocultures of acetogenic and methanogenic bacteria, *Antonie van Leeuwenhoek*, 68, 281-284
- Stark, L.R.; Williams, F.M.; Stevens, S.E.; Eddy, D.P. (1994):** Iron retention and vegetative cover at the simco constructed wetland: An appraisal through year eight of operation, US-Department of the Interior, Bureau of Mines; International Land Reclamation and Mine Drainage Conference
- Steed, V.S.; Suidan, M.T.; Gupta, M.; Miyahara, T.; Acheson, C.M.; Sayles, G.D. (2000):** Development of a sulfate reducing biological process to remove heavy metals from acid mine drainage, *Water Environment Research*, 72, 5, 530-535
- Stoll, A.; Duncan, J.R. (1997):** Implementation of a continuous-flow stirred bioreactor system in the bioremediation of heavy metals from industrial wastewater, *Environmental Pollution* 97, 3, 247-251
- Stoltz, E.; Greger, M. (2002):** Accumulation properties of As, Cd, Cu, Pb and Zn by four wetland plant species growing on submerged mine tailings, *Environmental and Experimental Botany*, 47, 271-280
- Straub, K.L.; Schink, B. (2003):** Evaluation of electron-shuttling compounds in microbial ferrie iron reduction, *FEMS Microbiology Letters*, 220, 229-233
- Susarla, S.; Medina, V.F.; McCutcheon, S.C. (2002):** Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination, *Ecological Engineering*, 18, 647-658
- Szathmary, E. (1997):** Origins of life: The first two billion years, *Nature*, 387, 662-663

- Szewzyk, U. (1987):** Untersuchungen zum Verhalten anaerober Bakterien an Oberflächen, Dissertation, Konstanz
- Szewzyk, U.; Schink, B. (1991):** Attachment to amorphous iron sulfide increases the activity of strictly anaerobic, gallic acid-degrading bacteria, FEMS Microbiology Letters, 78, 115-120
- Tarutis Jr, W.J.; Stark, L.R.; Williams, F.M. (1999):** Sizing and performance estimation of coal mine drainage wetlands, Ecological Engineering, 12, 353-372
- Thauer, R.K.; Jungermann, K.; Dekker, K. (1977):** Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria, Bacteriological Reviews, 41, 1, 100-180
- Thauer, R.K. (2001):** Nickel to the fore, Science, 293, 11-12
- Thiele, J.; Chartrain, M.; Zeikus, J.G. (1988):** Control of interspecies electron flow during anaerobic digestion: role of floc formation in syntrophic methanogenesis, Applied and Environmental Microbiology, 54, 1, 10-19
- Tiwary, R.K. (2000):** Environmental impact of coal mining on water regime and its management, Water, Air and Soil Pollution, 132, 185-199
- Traore, A.S.; Fardeau, M.-L.; Hatchikian, C.E.; Le-Gall, J.; Belaich, J.-P. (1983):** Energetics of growth of a defined mixed culture of *Desulfovibrio vulgaris* and *Methanosarcina barkeri*: Interspecies hydrogen transfer in batch and continuous cultures, Applied and Environmental Microbiology, 46, 5, 1152-1156
- Trofantchouk, O. (2001):** Catalytic Center of [NiFe] Hydrogenases, EPR, ENDOR and FTIR Studies, Dissertation, Berlin
- Tuppurainen, K.O.; Väisänen, A.O.; Rintala, J.A. (2002):** Zinc removal in anaerobic sulphate-reducing liquid substrate process, Minerals Engineering, 15, 847-852
- Utgikar, V.; Chen, B.-Y.; Tabak, H.H.; Bishop, D.F.; Govind, R. (2000):** Treatment of acid mine drainage: I. Equilibrium biosorption of zinc and copper on non-viable activated sludge, International Biodeterioration and Biodegradation, 46, 19-28
- Utgikar, V.P.; Chen, B.-Y.; Chaudhary, N.; Tabak, H.H.; Haines, J.R.; Govind, R. (2001):** Acute toxicity of heavy metals to acetate-utilising mixed cultures of sulfate reducing bacteria: EC 100 and EC 50, Environmental Toxicology and Chemistry, 20, 12, 2662-2669
- Utgikar, V.P.; Harmon, S.M.; Chaudhary, N.; Tabak, H.H.; Govind, R.; Haines, J.R. (2002):** Inhibition of sulfate reducing bacteria by metal sulfide formation in bioremediation of acid mine drainage, Inc Environ Toxicol, 17, 40-48
- Utgikar, V.P.; Tabak, H.H.; Haines, J.R.; Govind, R. (2003):** Quantification of toxic and inhibitory impact of copper and zinc in mixed cultures of sulfate-reducing bacteria, Biotechnology and Bioengineering, 82, 3, 306-312
- Valentine, D.L.; Blanton, D.C.; Reeburgh, W.S. (2000):** Hydrogen production by methanogens under low-hydrogen conditions, Archives of Microbiology, 174, 415-421
- van der Steen, P.; Brenner, A.; Van Buuren, J.; Oron, G. (1999):** Post-treatment of UASB reactor effluent in an integrated duckweed and stabilisation pond system, Water Research, 33, 3, 615-620
- van Hille, R.P.; Boshoff, G.a.; Rose, P.D.; Duncan, J.R. (1999):** A continuous process for the biological treatment of heavy metal contaminated acid mine water, Resources, Conservation and Recycling, 27, 157-167
- van Houten, R.T.; Oude Elferink, S.J.W.H.; Van Hamel, S.E.; Hulshoff Pol, L.W.; Lettinga, G. (1995):** Sulphate reduction by aggregates of sulphate reducing bacteria and homo-acetogenic bacteria in a lab-scale gas-lift reactor, Bioresource Technology, 54, 73-79
- Vengris, T.; Binkiene, R.; Sveikauskaite, A. (2001):** Nickel, copper and zinc removal from wastewater by modified clay sorbent, Applied Clay Science, 18, 183-190
- Veritz, J. (1988):** Sulfatreduktion und Sulfideliminierung bei der ein- und zweistufigen anaeroben Behandlung hochsulfathaltiger Abwasser, Dissertation, Hannover
- Vieitez, E.R.; Mosquera, J.; Ghosh, J. (2000):** Kinetics of accelerated solid-state fermentation of organic-rich municipal solid waste, Water Science and Technology, 41, 3, 231-238
- Villaescusa, I.; Fiol, N.; Cristiani, F.; Floris, C.; Lai, S.; Nurchi, V.M. (2002):** Copper (II) and nickel (II) uptake from aqueous solutions by cork wastes: a NMR and potentiometric study, Polyhedron, 21, 1363-1367
- Vogel, D.; Paul, M.; Sänger, H.-J.; Jahn, S. (1996):** Probleme der Wasserbehandlung am Sanierungsstandort Ronneburg, Geowissenschaften, 14, 11, 486-489
- Volesky, B. (1990):** Biosorption of heavy metals, CRC Press, Boca Raton
- Wächtershäuser, G. (1997):** The Origin of Life and its Methodological Challenge, Journal of Theoretical Biology, 187, 483-494
- Wakao, N.; Takahashi, T.; Sakurai, Y.; Shiota, H. (1979):** A treatment of acid mine water using sulfate-reducing bacteria, J. Ferment. Technol. 57 (5), 445-452
- Walker, D.J.; Hurl, S. (2002):** The reduction of heavy metals in a stormwater wetland, Ecological Engineering, 18, 407-414

- Walther, C.S.M. (2001):** Methanol als Elektronendonor für die mikrobielle Dekontamination sulfathaltiger Wässer, Dissertation, Leipzig
- Watanabe, T.; Motoyama, H.; Kuroda, M. (2001):** Denitrification and neutralisation treatment by direct feeding of an acidic wastewater containing copper ion and high strength nitrate to a bio-electrochemical reactor process, *Water Research*, 35, 17, 4102-4110
- Watson, J.H.P.; Ellwood, D.C.; Deng, Q.; Mikhalkovsky, S.; Hayter, C.E.; Evans, J. (1995):** Heavy metal adsorption on bacterially produced FeS, *Minerals Engineering*, 8, 10, 1097-1108
- Watson, J.H.P.; Cressey, B.A.; Roberts, A.P.; Ellwood, D.C.; Charnock, J.M.; Soper, A.K. (2000):** Structural and magnetic studies on heavy-metal-adsorbing iron sulfide nanoparticles produced by sulfate reducing bacteria, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 214, 13-30
- Watson, J.H.P.; Croudace, I.W.; Warwick, P.E.; James, P.A.B.; Charnock, J.M.; Ellwood, D.C. et al. (2001):** Adsorption of radioactive metals by strongly magnetic iron sulfide nanoparticles produced by sulfate reducing bacteria, *Separation Science and Technology*, 36, 12, 2571-2607
- Waybrant, K.R.; Blowes, D.W.; Ptacek, C.J. (1998):** Selection of reactive mixtures for use in permeable reactive walls for treatment of acid mine drainage, *Environmental Science and Technology*, 32, 1972-1979
- Wejma, J.; Stams, A.J.M.; Hulshoff Pol, L.W.; Lettinga, G. (2000a):** Performance of a thermophilic sulfate and sulfite reducing high rate anaerobic reactor fed with methanol, *Biodegradation*, 11, 429-439
- Wejma, J.; Stams, A.J.M.; Hulshoff Pol, L.W.; Lettinga, G. (2000b):** Thermophilic sulfate reduction and methanogenesis with methanol in a high rate anaerobic reactor, *Biotechnology and Bioengineering*, 67, 354-363
- Wejma, J.; Bots, E.A.A.; Tandlinger, G.; Stams, A.J.M.; Hulshoff Pol, L.W.; Lettinga, G. (2002):** Optimisation of sulphate reduction in a methanol-fed thermophilic bioreactor, *Water Research* 36, 1825-1833
- Widdel, F. (1980):** Anaerober Abbau von Fettsäuren und Benzolsäure durch neu isolierte Arten sulfatreduzierender Bakterien, Dissertation 1980, Konstanz
- Wilkin, R.T.; Barnes, H.L. (1996):** Pyrite formation by reactions of iron monosulfides with dissolved inorganic and organic sulfur species, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 60, 2
- Woller, N. (1994):** Reaktive flüssig/flüssig Extraktion von Schwermetallen aus Deponiesickerwasser, Dissertation, Düsseldorf
- Wood, T.S., Shelley, M.L. (1999):** A dynamical model of bioavailability in constructed wetland systems, *Ecological Engineering*, 12, 231-252
- Wu, L.F.; Mandrand, M.A. (1993):** Microbial hydrogenases: Primary structure, classification, signatures and phylogeny, *FEMS Microbiology Reviews*, 104, 243-270
- Wu X.-L.; Chin, K.J.; Stubner, S.; Conrad, R. (2001):** Functional patterns and temperature response of cellulose fermenting microbial cultures containing different methanogenic communities, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56, 212-219
- Yao, H.; Conrad, R. (2001):** Thermodynamics of propionate degradation in anoxic paddy soil from different rice-growing regions, *Soil Biology and Biochemistry* 33, 359-364
- Younger, P.L. (2000):** Nature and practical implications of heterogenities in the geochemistry of zinc-rich, alkaline mine waters in an underground F-Pb mine in the UK, *Applied Geochemistry* 15, 1383-1397
- Zaluski, M.; Foote, M.; Manchester, M. Canty, M.; Willis, M.; Consort, J.; Trudnowski, J.; Johnson, M.; Harrington-Baker, M.A. (1999):** Design and construction of bioreactors with sulfate-reducing-bacteria for acid mine drainage control, in Leeson, A.; Alleman, B.C.: *Phytoremediation and Innovative Strategies for Specialised Remedial Applications*, Battelle Press, Columbus
- Zoumis, T.; Calmano, W.; Förstner, U. (2000):** Demobilisation of heavy metals from mine waters, *Acta hydrochimica hydrobiologica*, 28, 4, 212-218